

**Über die Bestimmung der C-17-ketogenen Steroide
im Urin normaler Kinder
mit Hilfe von drei verschiedenen Modifikationen
der Zimmermann'schen Reaktion**

Von Ina Butenandt

Aus der Kinderklinik der Universität München

Direktor: Prof.Dr. A. Wiskott

Über die Bestimmung der C-17-ketogenen Steroide

im Urin normaler Kinder mit Hilfe von drei

verschiedenen Modifikationen der

Zimmermann'schen Reaktion.

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der

Ludwig - Maximilian - Universität zu München

vorgelegt von

Ina Butenandt

aus

Göttingen

1959



5349/60

Aus der Kinderklinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. A. Wiskott

Über die Bedeutung der C-17-Aminosäuren

im Urin normaler Kinder mit Hilfe von drei

verschiedenen Modifikationen der

Elmörman'schen Reaktion.

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig - Maximilian - Universität zu München

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Referent: Prof. Dr. A. Wiskott

Dekan : Prof. Dr. K. Kolle

Tag der mündlichen Prüfung: 16.6.1959

I N H A L T.

	Seite
Einleitung	5
Methodik	12
1.) Oxydation	13
2.) Hydrolyse	13
3.) Extraktion	14
4.) Colorimetrie	14
Material	21
Gruppeneinteilung und statistische Berechnung	23
Ergebnisse	
1.) Methodischer Fehler	25
2.) 17-KGS-Ergebnisse mit Tabellen	28
3.) 17-KS-Ergebnisse mit Tabellen	34
4.) Ohne Kochhydrolyse erhaltene 17-KGS- Ergebnisse mit Tabelle	40
Besprechung der Ergebnisse	
1.) Besprechung der 17-KGS-Ausscheidung mit Kurven	42
2.) Besprechung der 17-KS-Ausscheidung mit Kurven	46
3.) Vergleich der drei Colorimetriemethoden	49
4.) Über die Berechtigung der Korrektur in Colorimethode I	62
5.) Besprechung der 17-KGS-Ausscheidung bei Bestimmung ohne Kochhydrolyse	66
Zusammenfassung	67
Literaturverzeichnis	69

Einleitung.

Seitdem es möglich ist, Nebennierenrindenhormone therapeutisch anzuwenden, haben sie sich schnell auch in der Kinderheilkunde ein weites Anwendungsgebiet erobert. Corticosteroiden (Cst), wie z.B. Cortison, können nämlich Entzündungsvorgänge ganz entscheidend beeinflussen und so oft einen überraschenden Umschwung im Krankheitsgeschehen bewirken. Um zu sehen, wie weit bei Patienten, bei denen diese Wirkung auftritt, eine Hypofunktion oder eine Dysfunktion der Nebennierenrinde (NNR) vorliegt, sind verschiedene Untersuchungsmethoden für die Klinik entwickelt worden, die es ermöglichen, durch Bestimmung von Cst auf die Funktion der NNR zu schliessen.

Unter Cst versteht man eine Gruppe charakteristisch substituierter C 21-Steroide, die nur in der NNR gebildet werden. Die wichtigsten biologisch aktiven Cst sind (Vergl. DICZFALUSY u.a. 1956):

- 1.) Hydrocortison (Δ^4 Pregnen 11 β , 17 α , 21triol, 3,20dion)
- 2.) Cortison (Δ^4 Pregnen 17 α , 21diol, 3,11,20triol)
- 3.) Corticosteron (Δ^4 Pregnen 11 β , 21diol, 3,20dion)
- 4.) 11-Dehydrocorticosteron (Δ^4 Pregnen 21ol, 3,11,20trion)
- 5.) 11-Desoxycorticosteron (Δ^4 Pregnen 21ol, 3,20dion)
- 6.) 17-Hydroxy-11-Desoxycorticosteron (Δ^4 Pregnen 17 α ,
21diol, 3,20dion)
- 7.) Aldosteron (Δ^4 Pregnen, 11 β , 21diol, 3,20dion, 18al)

Die Cst können im Blut oder im Harn bestimmt werden. Die Hauptmenge der von der NNR ins Blut ausgeschütteten Hormone machen neben einer Reihe von Spurensubstanzen 2 Steroide aus: Hydrocortison und Corticosteron. (Vergl. ROSENKILDE und SCHRÖDER 1956). Für die Bestimmung der Cst im Blut wird hauptsächlich die Methode nach PORTER und SILBER angewendet. Sie erfasst 17-Oxy-Cst mit einer Dioxyaceton-Seitenkette (hauptsächlich also Hydrocortison) durch die Phenylhadrazin-Schwefelsäure-Färbung. (PORTER und SILBER 1950, 1954; NELSON und SAMUELS 1952).

Die Ausscheidung der Steroidhormone erfolgt beim Menschen fast ausschliesslich über die Niere. (Vergl. ROSENKILDE u.

SCHRÖDER 1956). Daher ist es sinnvoll, eine Cst-Bestimmung im Harn, in dem sich die Cst in relativ grosser Menge befinden, durchzuführen. Man muss allerdings berücksichtigen, dass es sich nicht mehr um die ursprünglichen Hormone handelt, sondern um Metaboliten, die durch bestimmte Abbauvorgänge im Stoffwechsel entstanden sind. Die wichtigsten Harnmetaboliten sind Tetrahydroverbindungen wie Pregnan-3 α -17 α -21triol, 11-20dion bzw. Pregnan 3 α -11 β -17 α -21tetrol, 20on. (LIEBERMAN u.a. 1950/5 SCHNEIDER 1952; BAGGET u.a. 1953) Seltener kann der Abbau bereits weiter erfolgt sein zu 11-oxy-17-Ketosteroiden. (Vergl. ROSENKILDE u. SCHRÖDER 1956) (s. Abb. 1).

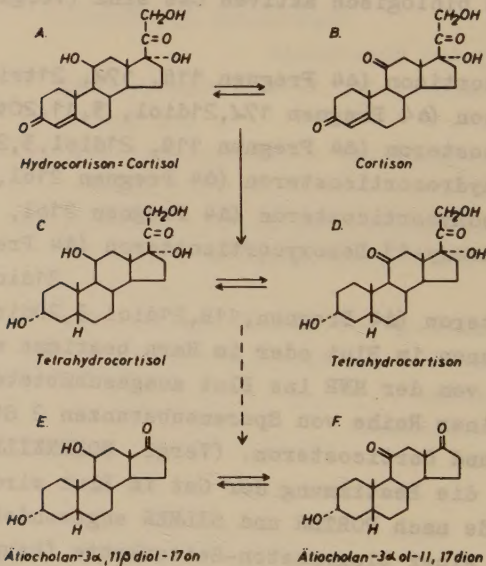


Abb. 1. Abbau von Hydrocortison und Cortison im Stoffwechsel.

Die für die Bestimmung der Harnmetaboliten am häufigsten angewendeten Methoden sind chemische Grundbestimmungen, die auf Reaktionen mit den Seitenketten der Cst beruhen. Man unterscheidet 6 typische Seitenketten (vergl. DICZFALUSY u.a. 1956):

- | | |
|--|--|
| I. COH-CO-CH_3 (17-20Ketol) | II. COH-CHOH-CH_3 (17-20Glycol) |
| III. $\text{CH-CHOH-CH}_2\text{OH}$ (20-21Glycol) | IV. $\text{CH-CO-CH}_2\text{OH}$ (20-21Ketol) |
| V. $\text{COH-CHOH-CH}_2\text{OH}$ (17,20,21triol) | VI. $\text{COH-CO-CH}_2\text{OH}$ (17,21diol, 20on.) |

Je nach Art der Bestimmung werden 1 - 4 Seitenkettentypen gleichzeitig erfasst:

Cst von Typ IV und VI können z.B. mit Hilfe ihrer reduzierenden Eigenschaften (TALBOT 1945, HEARD u. SOBEL 1946, STAUDINGER u. SCHMEISSER 1950) Cst von Typ III, IV, V und VI durch die Bildung von Formaldehyd (LÖWENSTEIN, CACORAN u. PAGE 1946) und Cst von Typ II durch Bildung von Acetaldehyd (COX 1952) bestimmt werden. Cst von Typ VI bilden mit Phenylhydrazin und Schwefelsäure (PORTER u. SILBER 1954) und Cst von Typ I, IV und VI mit Dinitrophenylhydrazin im alkalischen Milieu (GORNALL u. MAC DONALD 1953) einen Farbkomplex.

Für die Klinik erscheint die Bestimmung der sogenannten 17-ketogenen Steroide (17-KGS) besonders geeignet: Cst von Typ II, V und VI können durch Oxydation mit Natriumwismutat (NORYMBERSKI 1952; NORYMBERSKI u.a. 1953) in 17-Ketosteroide (17-KS) umgewandelt werden, die dann durch die Farbreaktion mit m-Dinitrobenzol im alkalischen Milieu bestimmt werden können. (ZIMMERMANN 1935, 1936)

Die Umwandlung der 17-KGS zu 17-KS durch Oxydation mit Natriumwismutat ist eine spezifische Reaktion wie BROOKS u. NORYMBERSKI 1953 durch verschiedene Modellversuche zeigen konnten. Es werden nur die Steroide mit den obengenannten Seitenkettentypen in 17-KS umgewandelt, und eine vermehrte Ausscheidung dieser Steroide, z.B. bei Zuführung von Cortison, bewirkt einen Anstieg der 17-KGS-Werte.

DICZFALUSY stellte mittels Säulenchromatographie und Infrarotspektroskopie fest, dass es sich bei den Oxydationspro-

dukten zum grössten Teil um 11-oxy-Steroide, vor allem um 11-Ketoätiolcholanolon handelt (s. Abb. 1, Formelbild F). Da man letzteres durch Oxydation von Tetrahydrocortison erhält, ist es wahrscheinlich, dass die Tetrahydroverbindungen tatsächlich die Hauptharnmetaboliten der Cst sind. Die Vorzüge der 17-KGS-Bestimmung nach NORIMBERSKI, STUBBS und WEST (1953) sind folgende:

- 1.) Man erfasst mehrere Seitenkettentypen der 17-Hydroxysteroiden, d.h. praktisch alle Glucocorticoidausscheidungsprodukte.
- 2.) Die schwierige Hydrolyse der fast immer an Glucuronsäure oder Schwefelsäure gebundenen Steroide wird erleichtert, indem die sehr labilen C₂₁ Steroide in relativ stabile 17-Ketosteroide (LIEBERMAN u.a. 1954) umgewandelt werden.
- 3.) Man verwendet die einfach auszuführende Zimmermannsche Farbreaktion, die ohnehin in vielen Kliniken für die 17-KS-Bestimmung eingeführt ist.

Für die colorimetrische Bestimmung der 17-KS wird in Deutschland vorwiegend die ursprünglich von ZIMMERMANN 1935 angegebene Methode - Messung der Absorption des entstandenen Farbstoffes in 2 Spektralbereichen und anschließende rechnerische Korrektur - oder die 1952 von ZIMMERMANN, ANTON und PONTIUS beschriebene Modifikation dieser Methode - Extraktion des entstandenen Farbstoffes mit Äther oder Chloroform und colorimetrische Messung in einem Spektralbereich - angewendet. Die Farbe wird dabei in wässrigem Alkohol entwickelt. (S. Abschnitt Colorimetrie).

Dagegen wird in England und Amerika mehr mit der 1938 von CALLOW entwickelten Modifikation gearbeitet, die im Gegensatz zu den beiden Zimmermannschen Methoden ein rein alkoholisches, wasserfreies Milieu für die Farbreaktion und eine anschliessende Verdünnung mit absolutem Alkohol vorschreibt. Es erfolgt ebenfalls eine Messung in 2 Spektralbereichen und eine anschliessende rechnerische Farbkorrektur. (S. Abschnitt Colorimetrie).

In Amerika wird auch die Modifikation von HOLT DORF u. KOCH verwendet, die mit der ZIMMERMANNmethode den Ansatz mit wässrigem Alkohol gemeinsam hat und mit der CALLOWmethode die anschliessende Verdünnung, jedoch mit nur 95%igem Alkohol. (HOLT DORF u. KOCH 1940).

Die mit diesen Modifikationen ausgeführten 17-KS-Bestimmungen liefern verschiedene Ergebnisse, die jedoch in einem bestimmten Verhältnis zueinander stehen. ZIMMERMANN u. Mitarbeiter untersuchten das Verhältnis der mit den oben erwähnten 4 Modifikationen erhaltenen Werte der im Harn vorkommenden 17-KS. Bei der Annahme, dass die, durch Reinigung der 17-KS über die Hydrazonbildung mit Girards Reagenz T (GIRARD 1936), gefundenen Werte 100% betragen, erhielten sie

bei Farbstoffextraktion mit Äther: 102 %

bei Farbstoffextraktion mit Chloro-
form: 99 %

bei Anwendung der Korrekturformel
(aufgestellt für ein Androsteron/
Kreatinin-Gemisch) nach ZIMMERMANN: 170 %

(ZIMMERMANN, ANTON und PONTIUS 1952).

Bei einer später durchgeführten Untersuchungsreihe setzte ZIMMERMANN die durch Farbstoffextraktion mit Äther gefundenen Werte gleich 100 % und erhielt

bei Anwendung der Korrekturformel
(aufgestellt für ein Androsteron/
Testosteron-Gemisch) nach ZIMMERMANN 108 %

bei Anwendung der CALLOW-Methode 73,3 %

bei Anwendung der Holtdorf u. Koch-
Methode 150,5 %

(ZIMMERMANN 1955).

Die durch Chloroform- oder Ätherextraktion erhaltenen Ergebnisse stimmen praktisch mit den Werten überein, die man durch die Girard-Reinigung der Ketosteroide erhält. Diese Modifikation wird deshalb von ZIMMERMANN den anderen

Modifikationen vorgezogen. Trotzdem genügt für die klinische Routinediagnostik die einfache rechnerische Eliminierung der Störsubstanzen durch Messung in 2 Spektralbereichen, sofern man immer die gleiche Methode anwendet und beachtet, dass die jeweiligen Normalwerte höher bzw. tiefer liegen als nach Reinigung der rohen Werte über Girardverbindungen oder durch Farbstoffreaktion (ZIMMERMANN, ANTON u. PONTIUS 1952).

Für die Bestimmung der 17-KGS wird hauptsächlich die Modifikation von CALLOW verwendet, da die 17-KGS-Bestimmung zuerst von englischen Autoren beschrieben wurde. Soweit in Deutschland die 17-KGS-Bestimmung durchgeführt wird, werden die Werte teils auch mit der ZIMMERMANN-Methode ermittelt (SCHILD 1954; LAROS 1955; BREUER u. NOCKE 1957). Die 17-KS, die durch die Wismutat-Oxydation aus den 17-KGS entstehen, sind mit den im Urin ursprünglich anwesenden 17-KS grösstenteils nicht identisch, und die colorimetrischen Äquivalente der verschiedenen 17-KS unterscheiden sich von einander wesentlich (CALLOW u.a. 1938; NORYMBERSKI u.a. 1953; WILSON 1954). Es ist daher begründet, anzunehmen, dass die mit verschiedenen Colorimetrie-Methoden erhaltenen 17-KGS-Werte ebenfalls verschieden sind, aber in einem anderen Verhältnis zueinander als die Ergebnisse der 17-KS-Bestimmung. Untersuchungen in dieser Richtung sind jedoch bisher nicht gemacht worden.

Die von NORYMBERSKI u. DICZFALUSY angegebenen Normalwerte der 17-KGS im Urin wurden mit der Colorimetrie-Modifikation nach CALLOW bestimmt. Folgende Werte wurden erhalten: Männer: 9,6 bis 19,2 mg/die und Frauen: 4,6 bis 13,4 mg/die (DICZFALUSY u.a. 1955). Die von LAROS 1955 bzw. BREUER u. NOCKE 1957 mit der Colorimetrie-Modifikation nach ZIMMERMANN, ANTON und PONTIUS erhaltenen Werte schwanken für Frauen zwischen 4 - 16,4 mg/die und für Männer zwischen 9,4 - 20 mg/die.

Normalwerte der 17-KGS-Ausscheidung bei Kindern wurden praktisch noch nicht bestimmt. Norymberski untersuchte nur

wenige Kinder im Alter von 6 - 11 Jahren und erhielt einen Mittelwert von 2,3 - 3,8 mg/die. Ausserdem wurden in unserer Klinik bereits Normalwerte bei Kindern für die Zimmermannmethode mit Korrektur durch Messung in 2 Spektralbereichen bestimmt. (BRÜNING 1959).

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war, Normalwerte der 17-KGS im Urin für Kinder mit 3 verschiedenen Colorimetriearten gleichzeitig aufzustellen, und das Verhältnis der mit den einzelnen Modifikationen erhaltenen 17-KGS-Werte zu untersuchen.

Methodik.

Für die Bestimmung der Cst bei Kindern nahmen wir als Ausgangsmaterial Urin, da dieser gegenüber Blut den Vorteil hat, dass das Sammeln keine grössere Belastung für das Kind darstellt, und die Menge der in ihm enthaltenen Cst relativ gross ist. Eine häufigere Cst-Bestimmung im Blut ist bei Kindern kaum durchzuführen, da die dazu nötige Menge Blut, 20 - 100 ccm, von Kindern nur schwer zu bekommen ist, und die Blutabnahme besonders kranken Kindern oft nicht zuge-
mutet werden kann.

Die Bestimmungen wurden in Anlehnung an die Methode von Norymberski und an die Modifikation nach Diczfalusy (DICZ¹ FALUSY u.a. 1955) ausgeführt. Sowohl Norymberski als auch Diczfalusy gehen von der selben Menge Urin aus. Diczfalusy nimmt jedoch eine grössere Menge Na-Wismutat, verlängert die Oxydationszeit von einer halben auf eine Stunde und lässt das Reaktionsgemisch anschliessend noch 18 - 24 Stunden stehen. Ausserdem benützt er als Extraktionsmittel Äther, während Norymberski Aethylendichlorid verwendet. Da Diczfalusy mit seiner Methode höhere Werte erhielt als Norymberski, wurden der zeitliche Oxydationsablauf und Äther als Extraktionsmittel von uns übernommen. Äther hat ausserdem den Vorteil, dass er sich wegen seines geringen spezifischen Gewichtes relativ gut von der wässrigen Phase trennt. Deshalb kann die Extraktion im Scheidetrichter durchgeführt werden, während bei Extraktion mit Aethylendichlorid die Trennung nur durch Zentrifugieren erreicht wird. Das Arbeiten im Scheidetrichter ist der Zentrifugiermethode unbedingt vorzuziehen, wenn grössere Mengen Urin untersucht werden sollen.

Bei unseren Untersuchungen nahmen wir eine grössere Ausgangsmenge Urin, da 1.) die absolute Menge der 17-KGS beim Kind geringer ist als beim Erwachsenen, 2.) jede Bestimmung mit drei verschiedenen colorimetrischen Methoden durchgeführt wurde und 3.) in unserem Labor häufig im An-

schluss an die Colorimetrie noch eine papierchromatographische Trennung der 17-KGS durchgeführt wird.

Zunächst wurde die 24-Stunden-Urinmenge jedes einzelnen Kindes gesammelt. Um bakterielle Zersetzungen zu verhindern, wurden in das Sammelgefäß etwa 5 ccm Eisessig gegeben. Soweit die Urinproben nicht gleich verarbeitet werden konnten, wurden sie im Kühlschrank aufbewahrt, um eine Veränderung der Cst möglichst zu vermeiden.

Da die ursprünglich im Urin enthaltenen 17-KS nach Norymberski durch die Oxydation nicht verändert werden, sind zwei Arbeitsgänge notwendig. Erstens die Bestimmung der im Urin ursprünglich enthaltenen 17-KS und zweitens die Bestimmung der nach Wismutatoxydation im Urin enthaltenen "Total-17 KS." Die Differenz von "Total-17 KS" und 17-KS ergibt die durch die Oxydation zu 17-KS umgewandelten 17-KGS. (NORYM-BERSKI u.a. 1953).

Die wichtigsten Schritte bei der 17-KGS-Bestimmung sind: Oxydation, Hydrolyse, Extraktion und Colorimetrie.

1.) Oxydation: 25 ccm des 24-Stundenurins werden mit der gleichen Menge 50%igem Eisessig und 6 g Nawismutat (Merck) versetzt, eine Stunde mittels eines Schüttelapparates im Dunkeln geschüttelt und 18 - 20 Stunden stehen gelassen. Dann wird zentrifugiert und von der überstehenden gelblichen Flüssigkeit werden 25 ccm abpipettiert. Um noch vorhandene oxydierende Substanzen, die die Bestimmung stören, zu reduzieren, werden 1,5 ccm einer 3 %igen Natriumhydrosulfitlösung zugefügt. Die Konzentration des Eisessig wird auf 25 % verringert, indem mit 25 ccm H_2O verdünnt wird.

2.) Hydrolyse: Durch das bei der Oxydation verwendete 50%ige Essigmilieu werden die an Glucuronsäure gebundenen 17-KGS bereits hydrolysiert, sodass auch ohne nachfolgende Kochhydrolyse mit der Zimmermannschen Reaktion Chromogene nachgewiesen werden können. Um alle 17-KS zu erfassen, ist nach Norymberski und Diczfalussy eine Kochhydrolyse mit HCl notwendig, da die noch gebundenen Steroide gut wasserlöslich sind und bei der Extraktion in der wässrigen Phase verblei-

ben würden. Die Hydrolyse wurde durch Zugabe von 5 ccm rauchender HCl und Kochen im Wasserbad (15 Minuten) erreicht.

3.) Extraktion: Nachdem die Proben erkaltet sind, werden sie in die oben mit offenen Aufsätzen versehenen, in einem Schüttelapparat senkrecht hängenden Scheidetrichter, umgefüllt. Es konnten auf diese Weise 8 Extraktionen gleichzeitig ausgeführt werden. Die Urinproben werden erst mit 50 ccm Äther und dann ein zweites Mal mit 30 ccm Äther 1 - 2 Minuten maschinell geschüttelt. Wenn die beiden Phasen sich deutlich abgesetzt haben, wird die aetherische Phase abgetrennt. Die beiden aetherischen Phasen werden vereinigt und einem Reinigungsverfahren unterzogen: Durch zweimaliges Schütteln mit 20 ccm 10%iger Natronlauge werden die phenolischen Steroide, durch einmaliges Schütteln mit gesättigter Sodalösung die sauren Verunreinigungen entfernt. Abschliessend wird mehrmals mit etwa 20 ccm H_2O bis zur Neutralisation geschüttelt.

Die leicht gefärbten Ätherextrakte werden in Bechergläser gefüllt und im Vakuum bei Zimmertemperatur zur Trockene gebracht. Den geringen Teil Wasser, der sich im Äther gelöst hat, kann man anschliessend in einem Wärmeschrank von höchstens 37° verdunsten lassen. Die "Total-17 KS" bleiben mit den aetherlöslichen oxydierten Harnpigmenten als trockene Substanz am Boden des Becherglases zurück.

4.) Colorimetrie: Für die quantitative Bestimmung der gesamten neutralen 17-KS gab W.Zimmermann 1935 eine Farb-reaktion an, die auf einer allgemeinen Reaktion zwischen einem an Kohlenstoff sitzenden, aber durch bestimmte Gruppen aktivierten Wasserstoff und Polynitrokörpern in alkalischem Milieu beruht. Der aus 17-KS und Dinitrobenzol in alkalischer Lösung entstehende violettrote Farbstoff ist relativ alkalistabil und weist ein ganz charakteristisches Absorptionsspektrum mit Maximum im Grünen auf. (Zimmermann 1935/36).

Bei Anwendung der Reaktion auf Harnextrakte entstehen meist Farbgemische von violettbraunem bis gelbbraunem Ton

mit Absorptionsmaximum im violetten Teil des sichtbaren Spektrums. Dies beruht auf einer Mitreaktion von andern farbgebenden Substanzen, - wie 20-KS, α - β ungesättigte 3-KS, Kreatinin, - da die Farbreaktion nicht spezifisch ist.

Die Eliminierung der störenden Chromogene ist nun auf verschiedenen Wegen möglich. Die einfachste Art ist die Anwendung einer Korrekturformel, wie sie von Zimmermann 1936 unter Anwendung der Vierordtschen Gleichung vorgeschlagen wurde. Sie macht eine Messung der Extinktion im Absorptionsmaximum der gesuchten Verbindung (530 m μ) und zur Korrektur im Absorptionsmaximum der störenden Farbe (430 m μ) nötig. Voraussetzung ist, dass sich die Absorptionskurven der beiden Komponenten in den gewählten Spektralbereichen möglichst verschieden verhalten und dass sich die Einzelfarben addieren. (ZIMMERMANN u.a. 1952). Dies ist z.B. der Fall bei einem Androsteron - Testosterongemisch oder bei einem Androsteron - Kreatininingemisch. Die Androsteronkonzentration kann dann nach folgender von Zimmermann abgeleiteten Formel errechnet werden:

$$\text{Konzentration(Androsteron)} = \text{Ext. (grün)} \times A - \text{Ext (viol)} \times B$$

A und B sind spezifische temperaturabhängige Extinktionskoeffizienten. Für eine Reaktionstemperatur von 25° betragen sie A = 31,0 und B = 5,0 (für ein Androsteron-Kreatininingemisch), bzw. A = 52 und B = 28 (für ein Androsteron-Testosterongemisch).

Zunächst wurde Kreatinin als Modell für das unbekannte störende Chromogen oder das Gemisch verschiedener störender Verbindungen gewählt. (ZIMMERMANN 1936). Später wurde durch weitere Untersuchungen festgestellt, dass es sich bei dem unbekannten störenden Chromogen wahrscheinlich um ein 3-KS oder eine ähnliche Verbindung handelt. (ZIMMERMANN u.a. 1952). Deshalb wurde zur Korrektur der durch die Zimmermannsche Farbreaktion bestimmten 17 - KS folgende Formel angegeben:

$$\text{Konz. (Androsteron)} = \text{Ext. (grün)} \times 52 - \text{Ext (viol.)} \times 28.$$

Im grossen und ganzen ist diese Art der Korrektur für

die 17 - KS der Harnextrakte günstig und liefert richtige Ergebnisse. Es ist jedoch möglich, dass einzelne Ergebnisse dadurch verfälscht werden, dass sie entweder zu wenig oder zu sehr korrigiert werden, da es sich in Wirklichkeit nicht um ein reines Androsteron-Testosterongemisch handelt. (Vergl. SPIEGELHOFF u.a. 1955).

Eine zweite Art um die störenden Chromogene auszuschalten, ist das Extrahieren des spezifischen aus 17 - KS entstandenen Farbstoffes mit Äther oder Chloroform. (ZIMMERMANN, ANTON u. PONTIUS 1952). Dabei bleiben die störenden Farbstoffe in der wässrigen Phase zurück, und man erhält eine klare violettrote Farbe, die ihr Extinktionsmaximum bei 500 m μ hat. Die 17-KS-Konzentration kann dann direkt in einer mit Androsteron aufgestellten Eichkurve abgelesen werden.

Eine dritte Art ist die 1938 von CALLOW angegebene Methode zur Bestimmung der 17-KS und Eliminierung der störenden Chromogene. Callow arbeitet im Gegensatz zu Zimmermann mit alkoholischer Kalilauge. Allein dadurch kommt es bereits zur Verminderung der braungelben Farbtöne. (CALLOW, CALLOW u. EMMENS 1938). Es ist jedoch trotzdem eine rechnerische Korrektur nötig. Die angewandte Korrekturformel leitet sich ebenfalls von der Vierordtschen Gleichung ab und lautet:

$$\text{Korrigiert. Ext.} = \frac{\text{Ext. (grün)} \times B - \text{Ext. (violett)}}{B - A}$$

Die spezifischen Extinktionskonstanten von Androsteron und dem störenden Chromogen betragen im Mittel : B = 1,5 und A = 0,4 (CALLOW 1950).

Durch Einsetzen der abgelesenen Extinktionen in die Formel erhält man einen korrigierten Extinktionswert, mit dem die gesuchte 17-KS-Konzentration auf der mit Androsteron aufgestellten Eichkurve abgelesen werden kann.

Die Erfinder der 17-KGS - Methode benützen an Stelle von Androsteron Dehydroisoandrosteron (DHA) als Eichsubstanz und auch alle nachfolgenden Arbeiten drücken die

17-KGS-Ergebnisse in DHA-Äquivalenten aus. Es zeigte sich ausserdem, dass die von Zimmermann für Androsteron angegebene Korrekturformel bei in unserem Labor ausgeführten Untersuchungen mit Reinslösungen von Androsteron und DHA besser auf letzteres zutrifft. Deshalb wurden auch unsere Eichkurven mit DHA aufgestellt.

Bei den eigenen Untersuchungen wurden die extrahierten 17-KS jeweils mit allen drei beschriebenen Modifikationen bestimmt, und zwar in folgender Reihenfolge:

- 1.) Ansatz mit alkoholischer KOH (Methode I)
- 2.) Ansatz mit wässriger KOH und nachfolgender Colorimetrie in zwei Spektralbereichen (Methode II)
- 3.) Ansatz mit wässriger KOH und nachfolgender colorimetrischer Messung des mit Chloroform extrahierten spezifischen Farbstoffs (Methode III).

Pro Ansatz werden 8 Urinextrakte gleichzeitig colorimetriert. Zunächst wird der Extrakt zur Bestimmung nach Methode I in einem ccm absolutem Alkohol gelöst. Man bringt dann in ein Reagenzglas je $0,2 \text{ cm}^3$ des alkoholischen Harnextraktes, der 2,5 n alkoholischen KOH und der 2%igen alkoholischen Dinitrobenzollösung. Pro Ansatz wird ausserdem ein Reagenzienleerwert angesetzt, wobei der alkoholische Extrakt durch absoluten Alkohol ersetzt wird. Sofort nach Zusetzen der Dinitrobenzollösung werden die durch Korkstopfen leicht verschlossenen Reagenzgläser gut durchgeschüttelt, in einen Thermostaten von $25 \pm 0,1^\circ$ gebracht und vor direktem Licht geschützt. Nach genau einer Stunde werden zu jedem Reagenzglas 10 cm^3 absoluten Alkohols zugefügt, um die sehr tiefe Farbe zu verdünnen. Die Intensität des rotvioletten Farbstoffes wird im elektrischen Colorimeter gegen den Reagenzienleerwert zunächst mit einem grünen Filter (S 53) und dann mit einem violetten Filter (S 42) gemessen.

Zur Bestimmung nach Methode II werden die restlichen $0,8 \text{ cm}^3$ des alkoholischen Extraktes mit absolutem Alkohol auf 10 cm^3 aufgefüllt. Man bringt dann in ein Reagenzglas je $1,5 \text{ cm}^3$ des alkoholischen Extraktes, der wässrigen 3 n

KOH und der 2%igen alkoholischen Dinitrobenzollösung. Pro Ansatz wird wiederum ein Reagentienleerwert angesetzt. Ausserdem wird für jeden einzelnen Extrakt ein Extraktleerwert angesetzt, wobei das Dinitrobenzol durch absoluten Alkohol ersetzt wird. Dadurch wird die Eigenfarbe des Harnextraktes ausgeschaltet. Nach einer Reaktionszeit von genau einer Stunde (bei $25^{\circ} \pm 0,1$) wird die colorimetrische Messung vorgenommen. Jeder Extraktansatz wird gegen seinen Extraktleerwert zunächst mit grünem (S 53) und dann mit violetter (S 42) Filter abgelesen. Der Reagentienleerwert wird gegen Alkohol abgelesen und die Extinktion anschliessend von der Hauptextinktion abgezogen.

Zur Bestimmung nach Methode III wird der Rest des auf 10 cm^3 aufgefüllten alkoholischen Extraktes verwendet. Der Ansatz ist gleich wie bei Methode II, jedoch werden von jeder Lösung 2 cm^3 genommen. Nach einer Reaktionszeit von genau einer Stunde (bei $25 \pm 0,1^{\circ}$) werden zu jedem Reagenzglas 8 cm^3 Chloroform hinzugefügt, und es wird gut durchgeschüttelt. Der Chloroformextrakt wird nach Trennung von der Reaktionslösung gefiltert, um eine klare Lösung zu bekommen. In das Faltenfilter wurde eine Messerspitze wasserfreies Natriumsulfat gegeben. Anschliessend wird die Farbintensität in nur einem Spektralbereich (S 49) gemessen. Jeder Hauptansatz wird gegen seinen Extraktleerwert, der Reagentienleerwert gegen Chloroform abgelesen und dann vom Hauptwert rechnerisch abgezogen.

Mit den auf diese Weise erhaltenen Extinktionen wird die 17-KS-Konzentration für alle drei Modifikationen berechnet. Für die Methode I ergibt sich der prozentuale Gehalt des Extraktes aus der korrigierten Extinktion durch Division durch den spezifischen Extinktionskoeffizienten für DHA. Pro Ansatz wurde jeweils ein Eichwert einer 20 mg prozentigen DHA-Lösung mitgeführt und die Umrechnung jeweils mit dem Mittelwert aus dem spezifischen Extinktionskoeffizienten des jeweiligen Ansatzes und dem ursprünglich mit Hilfe einer Eichkurve aufgestellten spezifischen Ex-

tinktionskoeffizienten durchgeführt. Hierin wurde die grösstmögliche Sicherheit bezüglich des wahren Wertes gesehen. Die Eichwerte schwanken um etwa $\pm 10\%$.

Aus der Konzentration des alkoholischen Extraktes wird die Tagesmenge der "Total-17-KS" in mg/DHA-Äquivalent bestimmt. Da die in der ursprünglichen Urinmenge von $12,5\text{ cm}^3$ enthaltenen "Total-17-KS" in nur 1 cm^3 Alkohol gelöst werden, liegt ein Konzentrationsverhältnis von $1 : 12,5$ vor. Dieses Verhältnis, sowie die Tagesurinmenge muss bei der Berechnung berücksichtigt werden.

Durch Einsetzen der gemessenen Extinktion in die Zimmermannsche Korrekturformel erhält man die Konzentration für Methode II, ebenfalls ausgedrückt in mg/DHA-Äquivalenten. Als Kontrolle wurde bei jedem Ansatz ein Eichwert einer $10\text{ mg\%igen}$ DHA-Lösung mitgeführt, der um etwa $\pm 10\%$ schwankte.

Die in der zur Untersuchung benutzten Urinmenge von $12,5\text{ cm}^3$ enthaltenen "Total-17-KS" werden in 10 cm^3 Alkohol gelöst. Es besteht also ein Konzentrationsverhältnis von $10 : 12,5$. Ausserdem muss bei der Berechnung der Tagesmenge berücksichtigt werden, dass die Konzentration des alkoholischen Extraktes nur noch $\frac{4}{5}$ der ursprünglichen Konzentration beträgt, da $\frac{1}{5}$ zur Bestimmung nach Methode I verbraucht wurde.

Die mit der Methode III erhaltenen Extinktionen können ohne Korrektur zur Umrechnung auf die Konzentration verwendet werden. Die der Extinktion entsprechende prozentuale Menge 17-KS wird durch den spezifischen Extinktionskoeffizienten errechnet. Pro Ansatz wurde ein Eichwert einer $10\text{ mg\%igen}$ DHA-Lösung mitgeführt, der wie bei Methode I bei der Berechnung berücksichtigt wurde. Die Umrechnung auf die Tagesmenge wird in gleicher Weise wie bei Methode II durchgeführt.

Zur Bestimmung der im Urin ursprünglich vorhandenen

17-Ks wurden 50, bzw. 100 cm³ Urin verwendet. Diese wurden mit 5 bzw. 10 cm³ rauchender HCl versetzt und dann in gleicher Weise wie die "Total-17-KS" hydrolysiert, extrahiert und colorimetrisch bestimmt.

Sowohl bei den 17-KGS als auch bei den 17-KS wurde nur die 24-Stunden-Ausscheidung bestimmt. Auf eine Berechnung der Liter-Konzentration wurde verzichtet, da diese eine sehr viel grössere Streuung als die Tagesausscheidung zeigt und sich daher bei Kindern keine Altersabhängigkeit ergibt (BIERICH 1956; BRÜNING 1959).

Beispiel für Methode I:

Ext. S 53 : 0,105 Ext. S 42 : 0,074

$$\text{Korrigierte Ext.} = \frac{1,5 \cdot 0,105 - 0,074}{1,1} = 0,075$$

Mittelwert des spez. Extinktionskoeffizienten für DHA : 0,0094

$$17 \text{ KS mg \%} : \frac{0,075}{0,0094} = 7,98$$

$$17 \text{ KS mg/die (Urinmenge: 550 cm}^3\text{)} : \frac{7,98}{100} \cdot \frac{550}{12,5} = 3,5$$

Beispiel für Methode II:

Ext. S 53 : 0,062 Ext. S 42 : 0,075

$$17 \text{ KS mg \%} = 52 \cdot 0,062 - 28 \cdot 0,075 = 1,13$$

$$17 \text{ KS mg/die (Urinmenge 550 cm}^3\text{)} : \frac{5}{4} \cdot \frac{10}{100} \cdot \frac{1,13}{12,5} \cdot 550 = 6,2$$

Beispiel für Methode III:

Ext. S 49 : 0,022

Mittelwert des spez. Extinktionskoeffizienten für DHA: 0,032

$$17 \text{ KS mg \%} : \frac{0,022}{0,032} = 0,688$$

$$17 \text{ KS mg/die (Urinmenge 550 cm}^3\text{)} : \frac{5}{4} \cdot \frac{10}{100} \cdot \frac{0,688}{12,5} \cdot 550 = 3,8$$

Material.

Insgesamt wurde die 17-KGS- und die 17-KS Ausscheidung von 100 Kindern im Alter von 2 Monaten bis zu 14 Jahren untersucht. 18 Urine stammten von Säuglingen im Alter von 2 - 5 Monaten und 82 Urine von Kindern im Alter von 2 - 14 Jahren. Aus technischen Gründen war es nicht möglich, Urine von Kindern im Alter zwischen 5 Monaten und 2 Jahren zu sammeln.

Das Ziel war, die Bestimmung an Urinen von gesunden Kindern vorzunehmen. Die Beschaffung dieser "normalen" Urine stieß jedoch auf gewisse Schwierigkeiten: Die Zahl der aus dem Kollegen- und Bekanntenkreis kommenden Kinder reichte nicht aus. Von Kinderheimen konnten keine Urine bekommen werden, da den Schwestern die mit dem Urinsammeln verbundene Mehrarbeit selten zugemutet werden konnte, und das genaue Sammeln der Tagesmenge im Heimbetrieb besonders bei Schulkindern nicht garantiert werden kann.

Das verwendete Material setzt sich daher aus 2 Gruppen zusammen:

- 1.) Aus Urinen von Kindern des Kollegen- und Bekanntenkreises. Diese Kinder gingen ihren alltäglichen Beschäftigungen wie Schule, Spielen... nach. Besondere Stresssituationen wie Kälte, Aufregung, Anstrengung, Reise usw. waren bei diesen Kindern nicht vorhanden.
- 2.) Aus Urinen von praktisch nicht oder nicht mehr kranken Kindern unserer Klinik. Die Auswahl betraf a) Kinder, die eine Erkrankung bereits längere Zeit überstanden hatten und kurz vor der Entlassung waren oder die nur zu einer Nachbehandlung in der Klinik weilten. b) Kinder, bei den während ihres Klinikaufenthaltes ein organisches Leiden ausgeschlossen wurde oder bei denen eine Einwirkung eines bestehenden Leidens auf die NNR-Funktion sehr unwahrscheinlich war. Kinder mit beeinträchtigtem Allgemeinzustand wurden nicht genommen. (Siehe Tabelle 2 und 3, in der die einzelnen Diag-

nosen der Kinder angegeben worden sind).

Die Urine der Kinder aus Gruppe 2 können jedoch nur eingeschränkt als "normal" bezeichnet werden, da es trotz der strengen Auswahl nicht ausgeschlossen ist, dass sich bei einigen Kindern die NNR-Funktion in Folge der überstandenen Krankheit nicht ganz normalisiert hatte. Auch ist möglicherweise der Klinikaufenthalt allein schon als aussergewöhnliche Situation mit Rückwirkung auf den NNR-Steroidstoffwechsel zu werten. Als Grundlage für klinische Untersuchungen können die gefundenen Mittelwerte jedoch als Normalwerte angesehen werden.

Das Sammeln der gesamten Tagesurinmenge wurde sowohl im Privathaus als auch in der Klinik gewissenhaft durchgeführt. Grössere Fehler durch ungenaues Sammeln sind daher nicht zu erwarten, jedoch ist eine geringe Fehlerquelle hierdurch sicher gegeben.

Gruppeneinteilung und statistische Berechnung.

Da die Zahl der untersuchten 100 Urine sich nicht gleichmässig auf die 15 untersuchten Lebensjahre verteilt, und die Zahl zur Aufstellung eines Mittelwertes für jeden Jahrgang zu gering ist, wurde eine Einteilung in 5 Altersgruppen vorgenommen:

I. Säuglinge von 2 - 5 Monaten:	18 Untersuchungen
II. Kinder von 2 - 4 Jahren:	21 Untersuchungen
III. Kinder von 5 - 7 Jahren:	14 Untersuchungen
IV. Kinder von 8- 10 Jahren:	29 Untersuchungen
V. Kinder von 11-14 Jahren:	18 Untersuchungen

Für diese Altersgruppen wurden, sowohl für die 17-KGS als auch für die 17-KS die arithmetischen Mittelwerte x_m errechnet und in den Kurven jeweils für die Mitte der Altersgruppe eingezeichnet. Die Gruppenmitten fallen auf den $3\frac{1}{2}$. Lebensmonat, bzw. auf das 3., 6., 9., und $12\frac{1}{2}$. Lebensjahr. Sie sind in den Kurven durch senkrechte Linien markiert.

Zu jedem Mittelwert wurde mit folgender Formel die jeweilige Standardabweichung bestimmt, da der Mittelwert nur in Verbindung mit dieser ein brauchbares Mass darstellt:

$$s = \pm \sqrt{\frac{\sum (x - x_m)^2}{N - 1}}$$

wobei s die mittlere quadratische Abweichung oder Standardabweichung, x den Einzelwert, x_m den arithmetischen Mittelwert der Einzelwerte und N die Anzahl der untersuchten Fälle bedeutet. Die erhaltene Standardabweichung ist bei Berücksichtigung der methodischen Fehlergrenze ein Mass für die physiologische Schwankungsbreite.

Der Mittelwert selbst ist abhängig von der Zahl und der Streuung der Untersuchungen. Je grösser die Zahl der Untersuchungen ist, umso wahrscheinlicher ist es, dass der errechnete Mittelwert mit dem "wahren" Mittelwert überein-

stimmt. Der errechnete Mittelwert hat also einen Vertrauensbereich, der umgekehrt proportional zu der Zahl der Untersuchungen ist. Um in unserem Fall die Genauigkeit des Mittelwertes zu bestimmen, wurde der Vertrauensbereich s_{xm} nach folgender Formel errechnet:

$$s_{xm} = \frac{s}{\sqrt{N}} \cdot t$$

Der Faktor t ist abhängig von der Zahl der Untersuchungen N bzw. dem Freiheitsgrad $N - 1$ und von der gewünschten statistischen Sicherheit. Er wurde in den Tabellen nach STUDENT abgelesen. Der Vertrauensbereich wurde für eine Sicherheit von 95 % in den Kurven angegeben.

(Die Formeln und Tabellen für die statistische Berechnung wurden den GEIGY-Tabellen 1955 entnommen).

Ergebnisse:

1.) Methodischer Fehler.

Um den methodischen Fehler festzustellen, wurde die 17-KGS-Konzentration eines Urines gleichzeitig in 8 Einzelportionen bestimmt. Ausserdem wurden 15 Doppelbestimmungen durchgeführt. Bei der statistischen Berechnung wurden 1.) der 8-fach-Versuch und die Doppelversuche für sich ausgewertet. Der mittlere Fehler wurde dabei mit Hilfe der Formel für die quadratische Abweichung:

$$s_1 = \pm \sqrt{\frac{\sum (x - x_m)^2}{N - 1}}$$

bestimmt. N ist die Zahl der Untersuchungen und beträgt in unserem Fall 8, bzw. 2 . 2.) wurden alle Doppelversuche und der 8-fach-Versuch gemeinsam ausgewertet. Der mittlere Fehler beträgt dann:

$$s_2 = \pm \sqrt{\frac{\sum (x - x_m)^2}{n - m}}$$

wobei $x - x_m$ die Abweichung vom Mittelwert, n die Zahl der insgesamt durchgeführten Bestimmungen und m die Zahl der untersuchten Urine bedeutet. (Die Formel wurde der Arbeit von W.GRASSMANN und K.HANNIG Zschr. f. physiol.Chemie 290, 1952 entnommen).

Die für die mittlere Streuung gefundenen Werte sind in Tabelle 1 angegeben.

Die 8-fache Bestimmung der 17-KGS-Konzentration bei Nr.1 wurde gegen Ende der Untersuchungen durchgeführt, als die Methodik gut beherrscht wurde. Die Einzelwerte liegen in allen 3 Colorimetriearten dicht beieinander, sodass sich nur eine geringe Streuung von $\pm 0,2 - \pm 0,4$ mg/die ergibt. Bei Berücksichtigung des ebenfalls niedrigen Mittelwertes ergibt sich eine prozentuale Streuung zwischen $\pm 10 \%$ und $\pm 15 \%$.

Die Doppelbestimmungen wurden am Anfang der Untersuchungen zur Einarbeitung in die Methode durchgeführt. Es ist deshalb verständlich, dass die Ergebnisse recht unterschiedlich sind. Der mittlere Fehler schwankt bei Methode I von $\pm 0,0$ - $\pm 1,3$ und bei Methode II und III von $\pm 0,0$ - $\pm 3,4$. Im allgemeinen nimmt er mit steigendem Mittelwert zu, jedoch liegt er prozentual bei niedrigen Mittelwerten häufig höher als bei hohen. Es zeigt sich ausserdem, dass die Schwankungsbreite des prozentualen Fehlers bei Methode II und III grösser ist als bei Methode I. Bei der gemeinsamen Auswertung der 8-fachen Bestimmung und der Doppelbestimmungen liegt der Fehler ebenfalls zwischen $\pm 10\%$ und $\pm 15\%$. Dies entspricht einer Fehlerbreite, die bei klinischen Routineuntersuchungen kaum zu unterschreiten ist, jedoch eine Auswertung der Ergebnisse erlaubt.

Tabelle 1

Methodischer Fehler

Methode I					Methode II				Methode III				
Alter	Total 17KGS mg die	Mittel wert	$\pm s_1$	% $\pm$	Total 17KGS mg die	Mittel wert	$\pm s_1$	% $\pm$	Total 17KGS mg die	Mittel wert	$\pm s_1$	% $\pm$	
4 J.	1,16 1,27 1,43 1,23 1,18 1,70 1,70 1,31	1,37	0,20	15	4,12 3,32 3,51 3,88 3,62 4,32 4,08 3,21	3,75	0,40	10	2,86 2,36 2,25 2,61 2,86 2,99 2,99 2,36	2,64	0,36	13	
2 M.	1,10 0,99	1,04	0,13	12	2,22 1,51	1,86	0,52	28	1,20 1,42	1,31	0,16	12	
6 J.	1,75 1,56	1,65	0,18	11	5,75 4,30	5,02	1,04	20	1,56 1,18	1,34	0,39	30	
2 J.	1,82 1,58	1,70	0,17	10	5,58 6,38	5,98	0,56	9	2,04 1,62	1,83	0,29	16	
2 M.	1,80 1,70	1,75	0,07	4	2,04 2,95	2,49	0,66	26	2,57 2,23	2,40	0,24	10	
3 M.	1,92 1,85	1,88	0,15	8	4,37 6,38	5,37	1,44	27	2,75 1,86	2,30	0,60	26	
4 M.	2,09 2,62	2,35	0,25	10	3,23 4,07	3,65	0,59	16	0,78 1,02	0,90	0,16	18	
5 J.	3,31 2,73	3,02	0,41	13	7,18 6,26	6,72	0,65	10	1,78 1,44	1,61	0,24	15	
9 J.	8,28 7,12	7,70	0,82	10	12,5 14,3	13,4	1,27	10	9,42 8,50	8,96	0,64	7	
7 J.	8,40 8,08	8,24	0,23	3	13,4 12,6	13,0	0,53	4	11,4 10,5	10,9	1,31	12	
12 J.	11,7 10,4 10,4	10,8	1,05	10	21,7 21,1	21,4	0,42	2	9,80 11,2	10,5	0,98	9	
12 J.	11,0 11,5	11,3	0,35	3	22,3 18,9	20,6	2,40	11	16,7 13,5	15,1	2,26	15	
13 J.	12,4 12,2	12,3	0,04	3	19,9 24,8	22,3	3,45	15	21,2 26,2	23,4	3,40	15	
12 J.	13,1 11,2	12,2	1,34	11	23,1 20,3	21,7	1,97	9	11,8 11,8	11,8	0,00	0	
13 J.					51,0 41,9	46,4	2,15	5	29,7 27,7	28,7	1,40	5	
5 M.	1,27 1,27	1,27	0,00	0	2,45 2,45	2,45	0,00	0	2,52 2,90	2,71	0,26	10	
			$\pm s_2$	%				$\pm s_2$	%				
- 16			4,75	0,50	10	12,3			1,80	13	7,14		

2.) Ergebnisse der 17-KGS-Untersuchungen.

Die einzelnen Ergebnisse der 17-KGS-Bestimmungen sind, ausgedrückt in mg/die DHA Äquivalent, in Tabelle 2 aufgeführt. Die gefundenen Werte schwanken bei Säuglingen: von 0,05-1,8(Meth.I), von 0,2-3,7(Meth.II), von 0,05-2,8(Meth.III) bei Kleinkindern bis zu 6 Jahren: von 0,2 -3,3(Meth.I), von 0,4-7,9(Meth.II), von 0,2-6,2(Meth.III) bei Schulkindern bis zu 10 Jahren: von 0,5-6,3(Meth.I), von 1,1-14,2(Meth.II), von 0,5-10,3(Meth.III) bei Schulkindern von 10-14 Jahren: von 1,1-11,8(Meth.I), von 2,2-28,5(Meth.II), von 2-20,7(Meth.III). Ausserdem ist bei einem 13jährigen Mädchen ein Extremwert von 2,5(Meth.I), von 26,5(Meth.III) und von 43,2(Meth.II) zu verzeichnen. Er wurde bei der Berechnung des Mittelwertes der Altersgruppe V nach CHAUVENET's Kriterium (vergl. GEIGY-Tabellen 1955) sowie wegen Adipositas und Preludin-medikation des Kindes ausgeschlossen. Die Bestimmung der Mittelwerte $\bar{x}_m$ und der mittleren quadratischen Abweichung s für die verschiedenen Altersgruppen ergab folgende Werte:

	Methode I mg/die	Methode II mg/die	Methode III mg/die
I Säuglinge	0,9 $\pm$ 0,5	1,9 $\pm$ 1,0	1,1 $\pm$ 0,8
II 2-4 Jahre	1,3 $\pm$ 0,8	3,4 $\pm$ 2,0	1,9 $\pm$ 1,6
III 5-7 Jahre	2,0 $\pm$ 1,4	5,2 $\pm$ 2,4	3,0 $\pm$ 2,5
IV 8-10 Jahre	3,1 $\pm$ 1,7	7,7 $\pm$ 4,0	4,7 $\pm$ 3,2
V 11-14 Jahre	5,5 $\pm$ 3,3	13,6 $\pm$ 7,0	7,1 $\pm$ 4,6

Ausserdem wurde der Vertrauensbereich der Mittelwerte ($s_{\bar{x}_m}$) für eine Sicherheit von 95 % errechnet:

	Methode I	Methode II	Methode III
I Säuglinge	$\pm 0,26$	$\pm 0,51$	$\pm 0,41$
II 2-4 Jahre	$\pm 0,36$	$\pm 0,91$	$\pm 0,73$
III 5-7Jahre	$\pm 0,84$	$\pm 1,36$	$\pm 1,44$
IV 8-10 Jahre	$\pm 0,66$	$\pm 1,51$	$\pm 1,20$
V 11-14 Jahre	$\pm 1,68$	$\pm 3,54$	$\pm 2,36$

Die Mittelwerte x_m wurden mit dem jeweiligen Vertrauensbereich s_{xm} und der mittleren quadratischen Abweichung s in Abhängigkeit vom Alter aufgezeichnet und zu Kurven verbunden. (s. Abbildung 2-4) Die einzelnen Messergebnisse sind in den Abbildungen als kleine Kreise eingetragen.

In Abbildung 5 wurden die für die gleiche Altersgruppe durch Anwendung der 3 Colorimetriearten errechneten verschiedenen Mittelwerte im selben Masstab eingetragen. Die Mittelwerte für eine Colorimetrieart wurden zur Mittelwertkurve verbunden.

Tabelle 2

17-KGS- Werte mg/die

Nr.	Alter		Methode I		Methode II	Methode III	Diagnose
			korri- giert	unkorri- giert			
x	1	2 Mon.	1,3	2,7	2,2	2,0	Z.n. Pyrolusspas-
	2	2 Mon.	0,7	1,2	1,7	0,9	Z.n. ^[mus] Dyspepsie
	3	2 Mon.	1,2	1,5	2,1	2,1	Z.n. Dystrophie
x	4	2 Mon.	0,6	1,0	1,2	0,3	gesund
	5	2 Mon.	0,1	0,1	1,3	0,2	Z.n. Dyspepsie
	6	2 Mon.	1,8	2,3	2,0	1,6	Z.n. Dyspepsie
	7	3 Mon.	0,9	1,3	4,1	1,3	Z.n. Pyodermien
x	8	3 Mon.	0,9	3,2	2,3	2,4	gesund
x	9	3 Mon.	1,7	1,8	3,7	2,8	Nahtsynostose
	10	3 Mon.	1,5	1,7	2,1	0,2	Z.n. Pyurie
x	11	3 Mon.	0,8	1,1	0,8	1,0	gesund
	12	3 Mon.	0,05	0,05	0,6	0,05	Z.n. Pyodermien
	13	4 Mon.	1,6	2,8	3,2	0,5	Z.n. Dyspepsie
x	14	4 Mon.	0,6	0,7	1,3	0,9	gesund
	15	5 Mon.	0,9	1,5	1,8	1,1	Z.n. Infekt
	16	5 Mon.	0,7	0,9	0,2	0,5	Z.n. Abzessen
	17	5 Mon.	0,6	0,7	1,3	0,7	Z.n. Pneumonie
	18	6 Mon.	0,4	0,9	1,8	1,4	Z.n. Bronchitis
x	19	2 Jahre	1,2	1,9	1,9	0,6	gesund
	20	2 Jahre	1,5	2,2	5,2	1,6	Leichte Muskeldys-
x	21	2 Jahre	3,3	5,7	7,2	5,8	gesund [trophie
	22	2 Jahre	2,1	3,9	2,1	2,9	Z.n. Grippe
	23	2 Jahre	0,2	0,7	0,9	0,4	Z.n. Enteritis
	24	2 Jahre	0,5	1,3	3,0	0,5	Cerebralschaden (Ad-
	25	2 Jahre	0,4	1,5	0,4	1,5	[renalin u. Insulin
	26	2 Jahre	0,3	0,6	5,2	0,2	Z.n. Adenoiditis
							Z.n. Pneumonie
x	27	2 Jahre	2,2	4,4	5,0	1,1	gesund
x	28	2 Jahre	1,5	2,7	3,5	3,1	gesund
x	29	2 Jahre	1,5	2,4	3,5	2,8	gesund
x	30	3 Jahre	2,3	3,1	7,9	1,4	Z.n. cerebralem An- [fall

Tabelle 2

17-KGS- Werte mg/die

	Nr.	Alter	Methode I		Methode II		Methode III		Diagnose
			korri- giert	unkorri- giert					
	31	3 Jahre	0,2	0,9	3,4		0,8		4 Wochen nach Po-
	32	3 Jahre	0,8	1,7	4,7		0,3		[liomyelitis
	33	3 Jahre	1,1	1,2	3,9		3,1		Z.n. Überlaufinkon-
									[tinenz
x	34	3 Jahre	1,9	3,1	3,0		5,2		Z.n. Enteritis
									gesund
	35	3 Jahre	1,2	6,1	2,4		1,5		Z.n. Angina
	36	4 Jahre	1,0	2,3	0,8		4,1		Z.n. Crushsyndrom
x	37	4 Jahre	1,1	2,5	1,6		1,0		gesund
x	38	4 Jahre	1,1	2,9	1,5		1,1		gesund
x	39	4 Jahre	1,7	2,9	4,1		1,6		gesund
	40	5 Jahre	0,9	2,1	4,1		1,3		Z.n. Pneumonie
x	41	5 Jahre	1,6	2,5	4,0		1,6		gesund
	42	5 Jahre	0,2	0,8	1,8		1,5		Z.n. Grippe mit Oc-
x	43	5 Jahre	1,7	3,0	6,2		1,9		[casionskrampf
									gesund
x	44	6 Jahre	1,3	2,0	3,1		0,6		Cerebrale Anfälle
	45	6 Jahre	1,1	1,4	2,9		4,6		Z.n. Oesophagusblu-
x	46	6 Jahre	2,3	3,6	6,2		5,4		[tungen (Hepanovin)
									gesund
	47	6 Jahre	3,7	5,8	3,5		2,5		Z.n. Pneumonie
	48	6 Jahre	1,5	2,3	6,2		1,9		Z.n. Otitis
x	49	6 Jahre	2,2	4,4	8,1		2,3		gesund
	50	6 Jahre	2,9	4,1	6,2		4,0		Z.n. Nephritis
x	51	7 Jahre	5,9	10,0	10,9		10,3		gesund
x	52	7 Jahre	1,5	2,2	5,5		2,1		gesund
	53	7 Jahre	0,5	1,2	4,1		2,6		Z.n. Grippe
	54	8 Jahre	1,1	2,7	4,8		2,2		Cerebrale Anfälle
x	55	8 Jahre	1,8	2,3	7,1		4,6		[pagrosin, Mylepsin, Lumi-
									gesund [nal)
	56	8 Jahre	1,4	4,2	5,8		8,8		Z.n. Hepatitis
x	57	8 Jahre	2,3	1,9	2,7		2,7		Z.n. Gipsbehandlung
									[(Hüftluxation)
x	58	8 Jahre	1,5	1,5	2,5		1,8		Bandwurm
x	59	8 Jahre	2,2	2,8	8,1		3,3		gesund
x	60	8 Jahre	1,5	3,5	5,2		2,9		gesund

Tabelle 2

17-KGS- Werte mg/die

Nr.	Alter	Methode		Methode II	Methode III	Diagnose
		I	korri- giert			
x 61	8 Jahre	4,1	6,0	12,9	5,2	gesund
x 62	8 Jahre	1,6	3,5	5,5	2,5	gesund
x 63	9 Jahre	4,9	6,6	14,2	6,4	Nabelkoliken
x 64	9 Jahre	6,2	7,3	10,0	7,5	3 Jahre nach Polio-
x 65	9 Jahre	5,1	7,4	9,1	3,3	[myelitis
66	9 Jahre	1,3	2,8	4,3	7,4	Neuropathie, Tic Z.n. Blutergelenk
x 67	9 Jahre	0,8	2,0	1,1	1,4	Neuropathie
x 68	9 Jahre	6,3	7,4	10,0	4,5	Cerebrale Anfälle
69	9 Jahre	5,2	7,7	13,2	6,4	[(Mylepsin)
x 70	9 Jahre	1,7	1,8	4,8	1,9	Z.n. Grippe
x 71	9 Jahre	3,1	4,3	8,9	2,9	gesund
x 72	9 Jahre	3,1	5,6	7,0	5,2	gesund
x 73	9 Jahre	2,9	5,0	6,9	3,3	gesund
74	10 Jahre	4,2	5,5	9,1	10,3	Z.n. Grippe
75	10 Jahre	3,9	7,8	18,2	15,1	Z.n. Otitis
76	10 Jahre	2,7	4,1	6,0	2,9	Z.n. Grippe
x 77	10 Jahre	3,4	6,5	13,5	5,2	Ductus Botalli
78	10 Jahre	5,5	6,9	7,2	4,1	Z.n. Grippe
x 79	10 Jahre	1,9	4,4	7,7	2,1	gesund
x 80	10 Jahre	6,0	7,5	9,3	8,6	Neuropathie
x 81	10 Jahre	1,1	1,5	2,6	0,4	gesund
x 82	10 Jahre	1,7	2,7	6,6	3,7	gesund
x 83	11 Jahre	1,1	6,8	2,1	2,2	Cerebrale Anfälle
84	11 Jahre	2,2	5,5	7,5	1,2	Z.n. Hepatitis [(Mylep.
85	11 Jahre	2,7	3,3	4,5	1,4	Z.n. Grippe
x 86	11 Jahre	2,3	4,4	5,9	2,7	gesund
x 87	11 Jahre	2,8	4,6	10,1	3,4	gesund
x 88	12 Jahre	5,7	10,2	15,2	7,2	leichter Herzfehler
x 89	12 Jahre	5,4	11,3	12,9	8,4	gesund
x 90	12 Jahre	10,2	15,2	18,4	14,1	gesund

Tabelle 2

17-KGS- Werte mg/die

	Nr.	Alter	Methode I		Methode II		Methode III	Diagnose
			korri- giert	unkorri- giert				
	91	12 Jahre	4,7	7,6	24,6	6,7		Z.n. Hepatitis
	92	12 Jahre	7,7	8,7	12,5	8,6		Z.n. Grippe
x	93	12 Jahre	7,8	11,2	15,0	7,6		gesund
	[94	13 Jahre	2,5	16,9	43,2	26,5		Adipositas (Prelu- [din])
x	95	13 Jahre	8,9	9,6	18,2	17,7		2 Jahre n.
x	96	13 Jahre	11,8	13,0	17,1	12,2		[Poliomyelitis gesund
	97	13 Jahre	2,0	5,3	11,8	5,8		Z.n. Enteritis
x	98	14 Jahre	9,4	10,5	28,0	10,4		Neuropathie
	99	14 Jahre	5,0	6,5	10,1	4,8		Z.n. Grippe
x	100	14 Jahre	4,0	6,6	17,0	5,6		gesund

Kranke Kinder:

101	5 Mon.	0,8	0,8	9,9	2,4		Subdurales Hämatom
102	12 Jahre	7,5	8,7	40,8	9,6		Kleinwuchs, leich- [te Hypothyreose
103	14 Jahre	0,2	1,8	4,9	1,5		Progressive Muskel- dystrophie, leich- te Hypothyreose

(Z.n. = Zustand nach)

(x = sicher verwertbare Ergebnisse)

3.) Ergebnisse der 17-KS-Untersuchungen.

Um einen Vergleich mit vorliegenden Arbeiten über die 17-KS-Ausscheidung zu ermöglichen, wurden auch die 17-KS für sich nach dem Alter geordnet und ihre physiologische Schwankungsbreite bestimmt.

Die einzelnen für die 17-KS-Ausscheidung gefundenen Werte sind in Tabelle 3 aufgeführt und ebenfalls in mg/die - DHA Äquivalent ausgedrückt. Sie schwanken

bei Säuglingen:

von 0,0-0,2(Meth. I), von 0,0-1,3(Meth. II), von 0,1-0,7(Meth. I)

bei Kleinkindern bis zu 6 Jahren:

von 0,0-0,4(Meth. I), von 0,0-0,2(Meth. II), von 0,1-1,6(Meth. I)

bei Schulkindern bis zu 10 Jahren:

von 0,1-2,3(Meth. I), von 0,2-6,0(Meth. II), von 0,5-4,8(Meth. I)

bei Schulkindern bis zu 14 Jahren:

von 0,2-7,2(Meth. I), von 0,2-7,3(Meth. II), von 0,9-7,7(Meth. I)

Für die verschiedenen Altersgruppen wurden folgende Mittelwerte $\bar{x}_m$ und quadratische Abweichungen s errechnet:

	Methode I	Methode II	Methode III
	mg/die	mg/die	mg/die
I Säuglinge	$0,1 \pm 0,08$	$0,2 \pm 0,16$	$0,3 \pm 0,2$
II 2 - 4 Jahre	$0,2 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,6$	$0,7 \pm 0,4$
III 5 - 7 Jahre	$0,3 \pm 0,3$	$1,3 \pm 0,7$	$0,9 \pm 0,3$
IV 8 -10 Jahre	$0,8 \pm 0,7$	$2,4 \pm 1,5$	$1,8 \pm 1,0$
V 11-14 Jahre	$2,2 \pm 2,2$	$3,6 \pm 1,8$	$3,3 \pm 2,2$

Der Vertrauensbereich der Mittelwerte s_{xm} für eine Sicherheit von 95 % beträgt:

	Methode I	Methode II	Methode III
I Säuglinge	$\pm 0,04$	$\pm 0,08$	$\pm 0,09$
II 2 - 4 Jahre	$\pm 0,06$	$\pm 0,28$	$\pm 0,19$
III 5 - 7 Jahre	$\pm 0,20$	$\pm 0,39$	$\pm 0,15$
IV 8 -10 Jahre	$\pm 0,25$	$\pm 0,56$	$\pm 0,39$
V 11-14 Jahre	$\pm 1,23$	$\pm 0,96$	$\pm 1,09$

Die Ergebnisse wurden in Abhängigkeit vom Alter in den Abbildungen 6 - 8 eingetragen und zu Kurven verbunden.

In Abbildung 5 sind die 3 Mittelwertskurven für die verschiedenen Colorimetriearten im selben Masstab eingetragen.

Tabelle 3

17-KS- Werte mg/die

Nr.	Alter	Methode I		Methode II	Methode III	Urin- menge ccm	Geschlecht
		korri- giert	unkorri- giert				
1	2 Mon.	-	-	0,3	0,4	110	m
2	2 Mon.	-	-	0,2	0,4	220	m
3	2 Mon.	0,2	0,5	0,5	0,5	190	m
4	2 Mon.	0,1	0,3	0,0	0,4	200	m
5	2 Mon.	0,0	0,1	0,2	0,1	240	m
6	2 Mon.	0,2	0,4	0,1	0,2	310	m
7	3 Mon.	-	-	-	0,4	370	m
8	3 Mon.	-	-	0,1	0,4	290	m
9	3 Mon.	0,2	0,3	0,2	0,5	230	m
10	3 Mon.	0,2	0,4	0,1	0,5	270	m
11	3 Mon.	0,1	0,3	0,3	0,1	150	m
12	3 Mon.	0,0	0,1	0,4	0,1	350	m
13	4 Mon.	0,1	0,2	0,5	0,1	480	m
14	4 Mon.	0,1	0,2	0,1	0,4	220	m
15	5 Mon.	0,1	0,3	0,4	0,7	300	m
16	5 Mon.	0,1	0,2	0,1	0,3	380	m
17	5 Mon.	0,1	0,3	0,0	0,1	230	m
18	6 Mon.	0,0	0,0	0,0	0,5	490	m
19	2 Jahre	0,2	0,5	0,8	0,9	450	w
20	2 Jahre	0,2	0,6	0,8	0,2	340	m
21	2 Jahre	0,1	1,0	0,6	0,2	210	w
22	2 Jahre	0,1	0,5	0,6	0,4	250	m
23	2 Jahre	0,2	0,5	0,2	0,2	270	m
24	2 Jahre	0,4	0,7	0,3	0,7	220	w
25	2 Jahre	0,0	0,02	0,1	0,1	360	w
26	2 Jahre	0,1	0,4	0,6	0,6	330	w
27	2 Jahre	0,0	0,9	1,5	0,9	560	m
28	2 Jahre	0,1	1,1	0,3	0,4	420	m
29	2 Jahre	0,1	1,0	1,6	1,3	310	w
30	3 Jahre	0,4	1,1	1,9	0,8	520	w

Tabelle 3

17-KS- Werte mg/die

Nr.	Alter	Methode I		Methode II	Methode III	Urin- menge ccm	Geschlecht
		korri- giert	unkorri- giert				
31	3 Jahre	0,2	0,5	0,7	0,3	230	w
32	3 Jahre	0,4	2,1	0,3	0,8	850	w
33	3 Jahre	0,0	0,5	0,3	0,4	310	w
34	3 Jahre	0,1	0,9	0,9	1,3	490	m
35	3 Jahre	0,1	0,4	0,4	0,5	480	m
36	4 Jahre	0,4	0,6	0,0	0,3	700	m
37	4 Jahre	0,3	0,6	2,2	0,6	390	m
38	4 Jahre	0,2	1,1	1,4	0,9	450	w
39	4 Jahre	0,2	0,8	1,1	0,9	510	w
40	5 Jahre	-	-	-	0,3	800	w
41	5 Jahre	0,3	0,7	1,1	0,8	360	m
42	5 Jahre	0,2	0,5	0,6	0,9	470	m
43	5 Jahre	0,2	0,7	1,1	0,9	310	m
44	6 Jahre	0,4	1,4	1,9	0,9	320	m
45	6 Jahre	0,1	0,9	1,1	0,8	530	w
46	6 Jahre	0,1	1,0	0,4	0,5	310	m
47	6 Jahre	0,1	1,4	2,8	1,1	850	m
48	6 Jahre	0,4	0,9	1,2	1,3	790	m
49	6 Jahre	0,4	1,1	1,0	0,9	450	w
50	6 Jahre	0,0	0,5	1,1	0,9	760	m
51	7 Jahre	0,3	1,3	2,1	0,6	610	w
52	7 Jahre	1,2	1,8	0,8	0,9	500	w
53	7 Jahre	0,7	1,0	1,2	1,1	490	m
54	8 Jahre	0,1	0,3	1,3	2,0	1300	w
55	8 Jahre	0,4	1,0	1,2	1,4	690	m
56	8 Jahre	0,8	1,6	1,4	4,0	1030	m
57	8 Jahre	0,3	0,9	0,7	1,0	550	m
58	8 Jahre	0,5	1,4	2,0	1,3	610	w
59	8 Jahre	0,1	0,4	1,5	0,6	710	w
60	8 Jahre	0,7	1,5	1,8	1,9	320	w

Tabelle 3

17-KS- Werte mg/die

Nr.	Alter	Methode I		Methode II	Methode III	Urin- menge ccm	Geschlecht
		korri- giert	unkorri- giert				
61	8 Jahre	0,5	1,1	1,3	1,3	430	w
62	8 Jahre	0,8	1,6	1,7	1,8	620	w
63	9 Jahre	0,7	2,3	2,3	1,4	630	w
64	9 Jahre	1,5	2,7	3,4	1,4	760	w
65	9 Jahre	1,3	2,5	2,0	2,3	340	m
66	9 Jahre	1,6	3,0	3,0	2,5	1190	m
67	9 Jahre	0,2	0,9	1,1	0,5	880	w
68	9 Jahre	0,1	1,8	5,2	2,6	1180	w
69	9 Jahre	1,2	3,2	5,2	4,8	1480	w
70	9 Jahre	0,5	1,4	1,2	1,1	910	w
71	9 Jahre	1,5	2,7	3,5	2,5	750	m
72	9 Jahre	0,2	2,2	3,3	1,9	900	w
73	9 Jahre	0,6	1,5	1,7	1,6	1050	m
74	10 Jahre	2,0	3,7	2,4	1,1	770	m
75	10 Jahre	2,3	4,8	0,8	1,6	1290	w
76	10 Jahre	0,8	1,3	0,2	0,9	350	m
77	10 Jahre	2,3	4,2	6,0	3,4	980	m
78	10 Jahre	0,1	0,2	3,0	1,4	860	m
79	10 Jahre	0,9	1,8	2,2	0,9	520	w
80	10 Jahre	1,1	2,9	5,2	3,3	1330	w
81	10 Jahre	0,1	0,6	1,9	0,8	500	m
82	10 Jahre	0,7	1,7	2,7	1,9	810	w
83	11 Jahre	0,2	0,3	3,1	2,5	1170	w
84	11 Jahre	0,2	0,5	4,1	2,9	1050	m
85	11 Jahre	0,4	1,1	1,5	1,3	820	m
86	11 Jahre	0,9	2,1	2,4	1,7	780	m
87	11 Jahre	0,5	1,5	2,2	5,1	1100	w
88	12 Jahre	-	-	-	6,5	720	w
89	12 Jahre	-	-	-	5,7	1310	m
90	12 Jahre	1,0	2,2	2,2	1,0	840	m

Tabelle 3

17-KS- Wert mg/die

Nr.	Alter	Methode I		Methode II	Methode III	Urin- menge ccm	Geschlecht
		korri- giert	unkorri- giert				
91	12 Jahre	5,2	6,7	7,3	6,5	1620	m
92	12 Jahre	5,5	6,4	6,5	7,3	960	w
93	12 Jahre	0,5	2,2	2,6	1,8	800	w
94	13 Jahre	-	-	3,3	2,2	390	w
95	13 Jahre	3,4	4,4	4,2	3,0	1640	m
96	13 Jahre	7,2	8,5	7,0	7,7	420	w
97	13 Jahre	2,9	3,7	3,6	4,6	960	m
98	14 Jahre	1,2	1,7	2,4	1,5	1000	m
99	14 Jahre	1,2	3,6	2,2	2,2	520	m
100	14 Jahre	2,1	2,8	3,0	2,6	790	m

Kranke Kinder:

101	5 Mon.	0,1	0,2	0,5	0,4	230	m
102	12 Jahre	5,7	6,4	8,5	6,3	960	w
103	14 Jahre	1,2	4,6	3,2	2,3	530	m

Ergebnisse der 17-KGS-Untersuchungen ohne Kochhydrolyse.

Bei 16 sicher ganz gesunden Kindern wurde die 17-KGS-Ausscheidung sowohl mit als auch ohne Kochhydrolyse bestimmt. Bei Verzicht auf die Kochhydrolyse werden vorwiegend die Steroide erfasst, die an Glucuronsäure gebunden sind und bereits durch 50%iges Essigmilieu gespalten werden.

Die Urinausgangsmenge wurde hierbei verdoppelt, im übrigen blieb der Untersuchungsgang derselbe wie bei der Bestimmung mit Kochhydrolyse. Die Umrechnung erfolgte ebenfalls auf mg/die DHA-Äquivalent. In Tabelle 4 sind die erhaltenen Werte der "Total-17-KS" für beide Untersuchungsarten aufgeführt. Ein Abzug der 17-KS von den "Total-17-KS" kam nicht in Frage, da die nativen 17-KS ohne Hydrolyse nicht erfasst werden. Ein ganz geringer Anteil der 17-KS wird allerdings ebenfalls durch das 50%ige Essigmilieu frei. Auf eine Bestimmung der 17-KS nach Ansatz mit Eisessig ohne nachfolgende Oxydation wurde jedoch verzichtet. Bei den mit Kochhydrolyse bestimmten "Total 17-KS" entfällt also ein grösserer Teil auf die 17-KS als bei den ohne Kochhydrolyse bestimmten "Total-17-KS".

Tabelle 4

Total-17KGS mg/die.

(hydrolysiert- nicht hydrolysiert)

Nr.	Alter	<u>Methode I</u>		<u>Methode II</u>		<u>Methode III</u>	
		hydrolysiert	nicht hydrolysiert	hydrolysiert	nicht hydrolysiert	hydrolysiert	nicht hydrolysiert
1	2 Jahre	2,2	1,3	6,5	4,6	2,0	3,7
2	2 Jahre	1,6	1,0	5,1	3,1	4,1	2,3
3	4 Jahre	1,3	1,7	2,9	2,8	2,0	2,8
4	4 Jahre	1,9	2,9	5,2	3,0	2,5	2,8
5	5 Jahre	1,9	1,3	7,3	3,5	2,8	3,6
6	6 Jahre	2,2	2,0	9,2	4,4	3,2	6,0
7	8 Jahre	2,3	1,3	9,2	6,7	3,9	4,3
8	8 Jahre	2,2	1,7	7,0	3,9	4,8	3,8
9	8 Jahre	4,6	2,9	14,2	5,4	6,5	3,9
10	9 Jahre	4,6	4,2	12,4	7,5	5,4	6,1
11	9 Jahre	3,3	3,0	10,3	6,3	7,1	5,5
12	9 Jahre	3,5	2,6	8,6	4,0	4,9	6,1
13	10 Jahre	2,8	2,2	9,9	6,1	3,0	6,6
14	10 Jahre	1,2	0,5	4,5	1,9	1,2	2,0
15	11 Jahre	3,2	3,2	8,3	7,1	4,4	7,5
16	12 Jahre	8,3	4,7	17,6	4,9	9,4	8,0
<u>Summe</u>		47,1	36,5	138,2	75,2	67,2	75,0
<u>Mittelwerte</u>		2,9	2,2	8,6	4,7	4,2	4,7

Besprechung der Ergebnisse:

1.) Besprechung der 17-KGS-Ausscheidung.

Die kurvenmässige Darstellung der 17-KGS-Werte (s. Abb. 2 - 5) ergibt eine deutliche Altersabhängigkeit. Bei allen drei Colorimetriearten steigt die Tagesausscheidung vom Säuglingsalter bis zu 14 Jahren an. Der Anstieg der Mittelwertskurve erfolgt im ganzen Kindesalter ziemlich gleichmässig. Allerdings sind die Schwankungen der Einzelwerte recht erheblich. So findet man im Extremfall z. B. im Säuglingsalter und mit 11 Jahren gleich hohe Werte. Besonders auffallend ist die Schwankung der Einzelwerte zwischen dem 11. und 12. Lebensjahr. Würde man eine Kurve unter Verwendung der Mittelwerte der einzelnen Lebensjahre zeichnen, so hätte diese zwischen dem 11. und 12. Lebensjahr einen scharfen Knick nach oben. Bei der geringen Untersuchungszahl ist der Knick jedoch statistisch nicht zu sichern, da er auf einer rein zufälligen Auswahl beruhen kann. Ein Ausgleich durch eine Zusammenfassung in Altersgruppen ist deshalb gerechtfertigt. Andererseits ist es aber auch möglich, dass die 17-KGS-Ausscheidung tatsächlich, parallel zur 17-KS-Ausscheidung, mit beginnendem Pubertätsalter stärker zunimmt. Dies könnte nur durch eine grössere Untersuchungszahl gesichert werden. Bei der Bestimmung der freien Corticoide (ZEISEL und PRESSLER 1953), sowie der reduzierenden gebundenen Corticoide (BIERICH 1956) im Kindesalter wurde kein sprunghafter Anstieg der Ausscheidung mit beginnendem Pubertätsalter beobachtet.

Auf jeden Fall weisen die grossen Schwankungen der Einzelwerte - die nur zu einem kleinen Teil durch den methodischen Fehler bedingt sein können, der bei vergleichbaren Mittelwerten nur etwa $\frac{1}{4}$ - $\frac{1}{6}$ der mittleren quadratischen Streuung ausmacht, - daraufhin, dass die Quantität der Normalwerte, die auch mit der unterschiedlichen Grösse und Entwicklung der Kinder zusammenhängt, von alltäglichen Stresssituationen beeinflusst wird. Es ist daher kaum möglich, aus der Quantität einer Einzeluntersuchung Rückschlüsse auf die normale Funktion der NNR zu machen. Dies ist nur möglich

1.) durch gehäufte Untersuchungen, 2.) durch Belastung der NNR mit ACTH und Bestimmung der anschliessenden Mehrausscheidung von Steroiden, 3.) durch Bestimmung der Qualität der einzelnen ketogenen Steroide, wozu die Bestimmung mit 3 verschiedenen Colorimetriearten vielleicht eine Möglichkeit bietet.' (s. später).

Die mit Methode II erhaltenen Mittelwerte der "Total-17-KS" liegen ausser in der letzten Gruppe etwas tiefer als die von BRÜNING 1959 angegebenen "Total-17-KS", jedoch innerhalb des angegebenen Vertrauensbereiches der Mittelwerte. Für die 10 - 14 jährigen liegt der Mittelwert etwas höher, sodass unsere Kurve in diesem Lebensabschnitt etwas steiler verläuft, als die von BRÜNING.

"Total-17-KS"		"Total-17-KS" nach BRÜNING	
Alter	Mittelwert	Alter	Mittelwert
Säuglinge	2,1 mg/die	Säuglinge	2,3 mg/die
2 - 4 Jahre	4,2 mg/die	1 - 3 Jahre	4,5 mg/die
5 - 7 Jahre	6,5 mg/die	4 - 6 Jahre	6,5 mg/die
8 -10 Jahre	10,1 mg/die	7 - 9 Jahre	9,9 mg/die
11-14 Jahre	17,2 mg/die	10-14 Jahre	14,5 mg/die

Die von NORIMBERSKI mit Methode I gefundenen 17-KGS-Werte bei Kindern stimmen mit unseren im entsprechenden Alter gut überein.

BORTH u.a. (1957) bestimmten nach der Modifikation von APPLEBY (1954), einer Erweiterung der Methode von NORIMBERSKI, alle 17-OH-Cst. Bei Kindern von 0 - 10 Jahren fanden sie Werte zwischen 0,3 und 4,3 mg/die und bei Kindern von 10 - 20 Jahren zwischen 2,6 und 18,0 mg/die. Diese Ergebnisse liegen etwa im Bereich unserer mit Methode I gefundenen 17-KGS-Werte der entsprechenden Altersabschnitte.

Ebenso gleichen die von BIERICH (1956) mit der Bestimmung nach STAUDINGER u. BAUER (1954) erhaltenen Werte für die Ausscheidung der reduzierenden freien und gebundenen Corticoide etwa den von uns mit Methode I gefundenen Werten der 17-KGS-Ausscheidung.

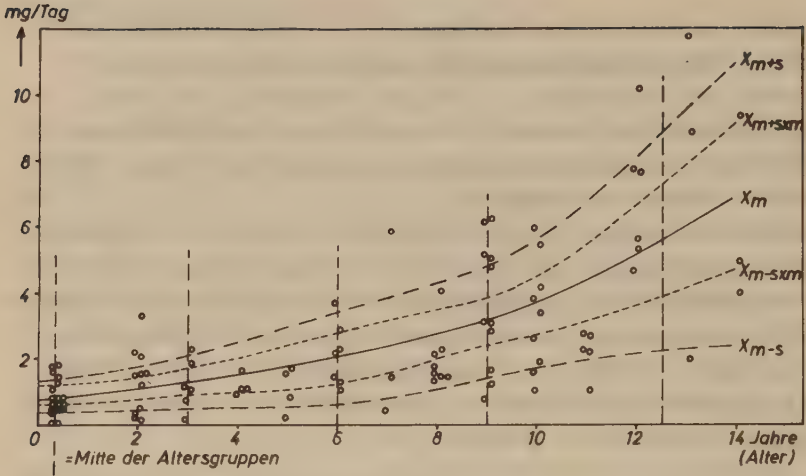


Abb. 2. 17- KGS - Einzelwerte (Colorimetrimethode I) aller Kinder nach dem Alter aufgeschlüsselt. x_m = Mittelwertskurve, $\pm s x_m$ = Vertrauensbereich der Mittelwertskurve für 95% Sicherheit, $\pm s$ = Standardabweichung (Summe aus physiologischer Schwankungsbreite und methodischem Fehler)

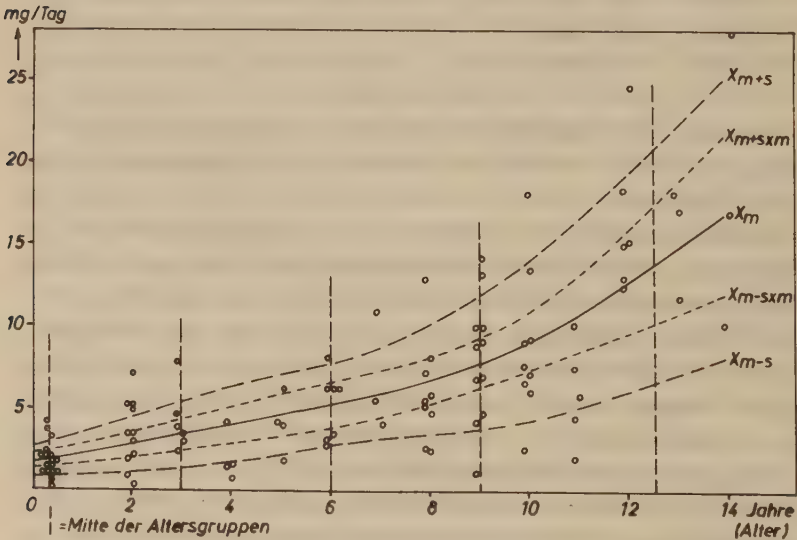


Abb. 3. 17- KGS - Einzelwerte (Colorimetrimethode II) aller Kinder nach dem Alter aufgeschlüsselt. (Bedeutung der Zeichen wie in Abb.2.)

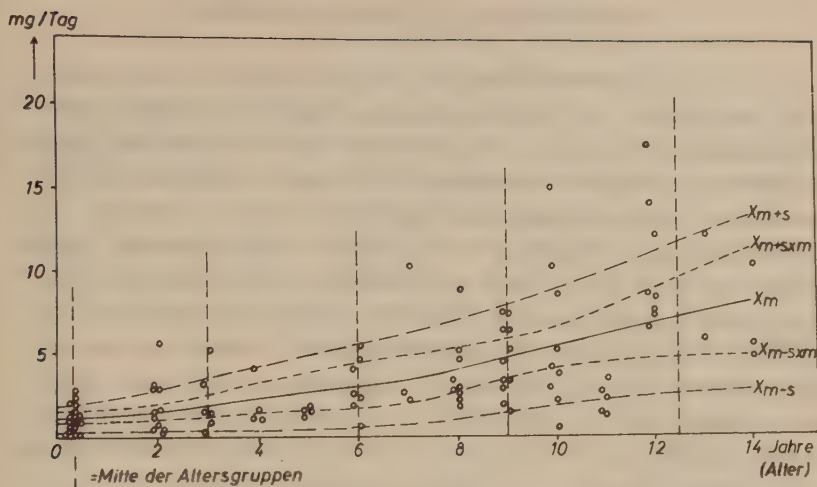


Abb. 4. 17-KGS - Einzelwerte (Colorimetrimethode III) aller Kinder nach dem Alter aufgeschlüsselt. (Bedeutung der Zeichen wie in Abb. 2.)

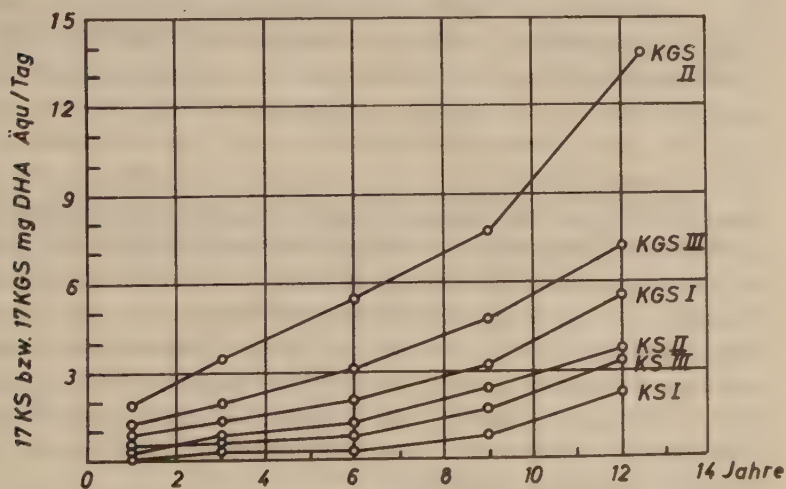


Abb. 5. Mittelwertskurven für die 17-KGS- und die 17-KS-Ausscheidung unter Verwendung von drei verschiedenen Colorimetrimodifikationen. (Zeichenerklärung siehe Text)

Besprechung der 17-KS-Ausscheidung.

Die 17-KS-Ausscheidung bei Kindern wurde schon mehrfach untersucht. Es wurde gefunden, dass sie in den ersten Lebensjahren nur gering ist und erst mit beginnendem Pubertätsalter sprunghaft ansteigt. Auch unsere Ergebnisse zeigen diese Altersabhängigkeit deutlich. (Vergl. Abb. 5 - 8) Die Mittelwerte liegen jedoch in allen drei Methoden etwas tiefer als die von ZEISEL und PRESSLER (1953) mit der Colorimetrimodifikation nach RUPPERT gefundenen Werte. Bei Berücksichtigung des Vertrauensbereiches der Mittelwerte entsprechen die mit Methode II gefundenen Ergebnisse letzteren annähernd. Die mit Methode I gefundenen Mittelwerte liegen bei Berücksichtigung des Vertrauensbereiches etwa so wie die von TALBOT u.a. (1943) erhaltenen Werte.

Bei unseren Untersuchungen beträgt die 17-KS-Ausscheidung bei Säuglingen von 2 - 5 Monaten im Mittel 16 % der 17-KGS-Ausscheidung, bei Kindern von 2 - 4 Jahren 25 %, von 5 - 7 Jahren 24 %, von 8 - 10 Jahren 32 % und bei Kindern von 11 - 14 Jahren 38 %. Bei Erwachsenen findet man eine 17-KS-Ausscheidung bei Frauen von 10 - 12 mg/die und bei Männern von 15 - 20 mg/die. (ZIMMERMANN 1951, TALBOT 1940). Sie ist somit etwa gleich gross wie die von NORIMBERSKI (1953) und DICZFALUSY (1955) ermittelte 17-KGS-Ausscheidung. Der relative Anteil der 17-KS an der gesamten Steroidausscheidung nimmt also mit steigendem Lebensalter der Kinder zu und erreicht wahrscheinlich erst bei voller Funktion der Keimdrüsen die endgültige Höhe. Dem entspricht die Tatsache, dass sich die 17-KGS aus den in jedem Lebensalter gleichmässig gebrauchten Glucocorticoiden zusammensetzen, während die 17-KS hauptsächlich als Spiegel der androgenen Hormonproduktion aufzufassen sind, die bekanntlich erst mit der Pubertät stärker einsetzt.

In Methode I betragen die 17-KS-Werte aller Kinder im Mittel 21,4 % in Methode II 23,4 % und in Methode III 35,8 % der 17-KGS-Werte.

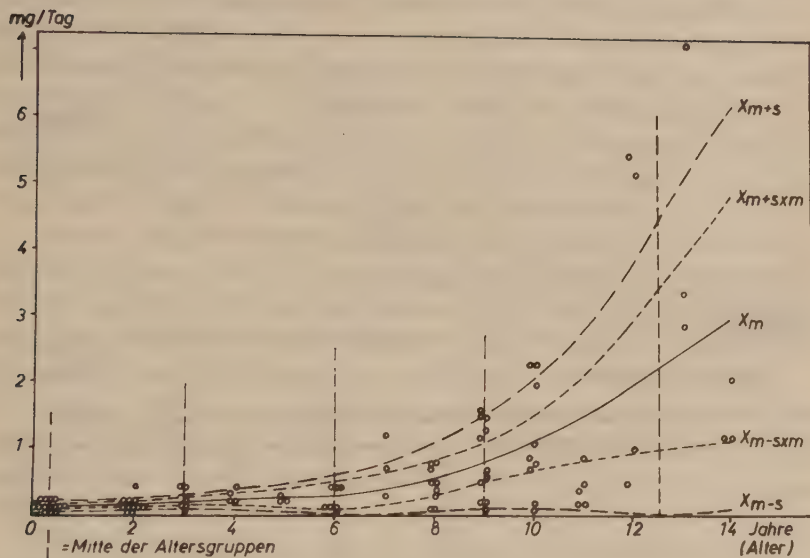


Abb. 6. 17-KS-Einzelwerte (Colorimetrimethode I) aller Kinder nach dem Alter aufgeschlüsselt. x_m = Mittelwertskurve; $\pm s_{xm}$ = Vertrauensbereich der Mittelwertskurve für 95% Sicherheit; $\pm s$ = Standardabweichung (Summe aus physiologischer Schwankungsbreite und methodischem Fehler)

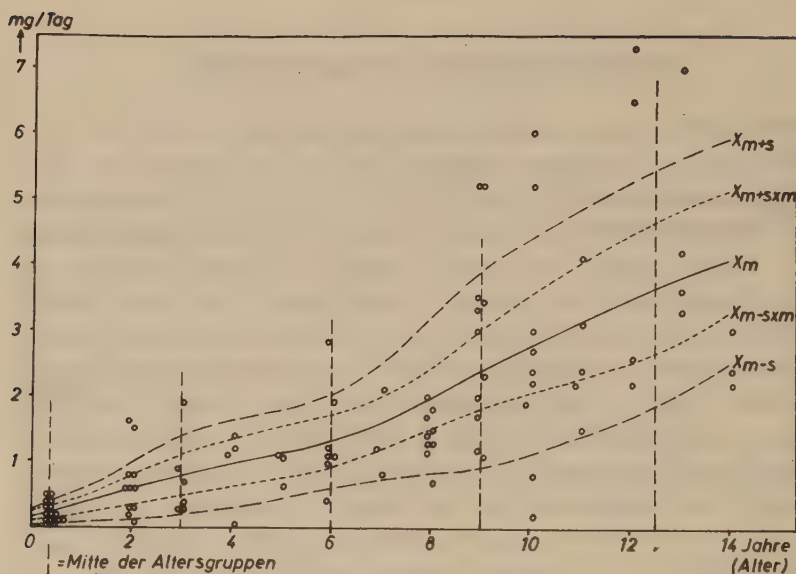


Abb. 7. 17 - KS - Einzelwerte (Colorimetrimethode II) aller Kinder nach dem Alter aufgeschlüsselt. (Bedeutung der Zeichen wie in Abb. 6.)

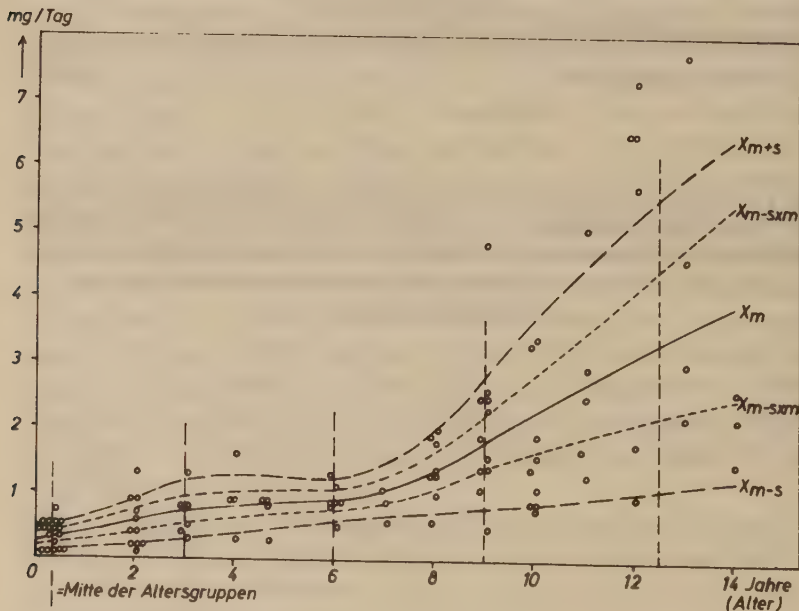


Abb. 8. 17 - KS - Einzelwerte (Colorimetrimethode III) aller Kinder nach dem Alter aufgeschlüsselt. (Bedeutung der Zeichen wie in Abb. 6.)

3.) Vergleich der 3 Colorimetriemethoden.

Die mit den drei verschiedenen Colorimetriearten erhaltenen 17-KGS-Ergebnisse zeigen einen deutlichen Unterschied. Sie liegen zwar in der gleichen Grössenordnung, jedoch sind die Werte der Methode II durchweg höher als die der Methoden I und III. Weiterhin sind die Ergebnisse der Methode III in der Regel höher als die der Methode I. Man erhält daher mit Methode II in allen Altersgruppen die höchsten, mit Methode I die niedrigsten Mittelwerte.

Setzt man wie ZIMMERMANN die mit Methode III gefundenen Werte gleich 100 %, so betragen die Ergebnisse in Methode I im Mittel 70 % und in Methode II 176 %. Setzt man dagegen die Ergebnisse der Methode I, der für die 17-KGS-Bestimmung bisher hauptsächlich benützten Colorimetriemethode, gleich 100 %, so erhält man mit Methode II im Mittel 250 % und mit Methode III 141 %. Dies entspricht einem durchschnittlichen Verhältnis der Mittelwerte der drei Colorimetriemethoden zueinander von 1 : 2,5 : 1,4.

Dieses Verhältnis steht in einem erstaunlich guten Einklang mit dem Verhältnis der Colorimetrieäquivalente des 11-Keto-Ätiocholanolons, des Hauptoxydationsprodukts des im normalen Urin ausgeschiedenen wichtigsten Metaboliten, der NNR-Hormone : Tetrahydrocortison. Die Colorimetrieäquivalente des 11-Keto-Ätiocholanolons verhalten sich nämlich für die beschriebenen 3 Methoden wie 1 : 2,1 : 1,4, wie Untersuchungen in unserem Labor zeigten. Dies bestätigt, dass es sich bei den 17-KGS im Urin normaler Kinder hauptsächlich um diese Tetrahydroverbindung handelt. Weiterhin ist daran zu denken, dass das Verhältnis der verschiedenen Colorimetriewerte eines Extraktes schon ein Hinweis auf die in ihm in grösserer Menge enthaltenen Stoffe sein könnte.

In den einzelnen Altersgruppen verhalten sich die mit den 3 verschiedenen Colorimetriemethoden gefundenen Mittelwerte zu einander wie folgt:

	Methode I	:	Methode II	:	Methode III
Säuglinge	1	:	2,1	:	1,2
2 - 4 Jahre	1	:	2,6	:	1,5
5 - 7 Jahre	1	:	2,7	:	1,6
8 -10 Jahre	1	:	2,5	:	1,5
11-14 Jahre	1	:	2,5	:	1,3

Ein wesentlicher Unterschied gegenüber dem für alle Kinder gefundenen durchschnittlichen Verhältnis der Mittelwerte von 1 : 2,5 : 1,4 ist nicht vorhanden.

Da die errechneten Mittelwerte den wahren Mittelwerten nicht entsprechen, sondern je nach Zahl und zufälliger Auswahl der Einzelwerte etwas über oder unter dem "wahren" Mittelwert liegen, könnte der Unterschied der 3 durch die verschiedenen Colorimetriearten erhaltenen Mittelwerte jeder Altersgruppe auf Zufall beruhen. Daher wurde der Unterschied auf seine Signifikanz untersucht. Man erhält die Abweichung t (bei Freiheitsgraden unter 60), mit der man die Wahrscheinlichkeit P sucht, durch Division der Mittelwert-Differenz ($x_m - x'_m$) durch die Standardabweichung SD der Mittelwertdifferenz:

$$t = \frac{x_m - x'_m}{SD}$$

Die Standardabweichung SD der Mittelwertdifferenz ergibt sich aus der gemeinsamen Streuung:

$$s^2_{x,x'} = \frac{\sum(x^2) - x_m \cdot \sum(x) + \sum(x'^2) - x'_m \cdot \sum(x')}{N + N' - 2}$$

und der Anzahl der Untersuchungen ($N + N'$):

$$SD = \sqrt{\frac{s^2_{x,x'}}{N} + \frac{s^2_{x,x'}}{N'}}$$

Unter Berücksichtigung des Freiheitsgrades $n = N + N' - 2$

erhält man für jedes errechnete t die Wahrscheinlichkeit P (aus der Tabelle der t -Verteilung nach STUDENT). Ist P kleiner als 0,05, so wird der Unterschied als signifikant angesehen.

Die Wahrscheinlichkeit P liegt:

- a) Für die Differenz aller Mittelwerte von Methode I und II: unter 0,001
- b) Für die Differenz aller Mittelwerte von Methode II und III: zwischen 0,001 und 0,05
- c) Für die Differenz der Mittelwerte von Methode I und III in der Altersgruppe IV: unter 0,01
- d) Lediglich für die Differenz der Mittelwerte von Methode I und III in den Altersgruppen I, II, III und V liegt P : über 0,05.

Der Unterschied der Mittelwerte zwischen Methode I und II, bzw. II und III ist also signifikant und beruht nicht auf Zufall.

Der Unterschied zwischen Methode I und III könnte auf Zufall beruhen, was jedoch durch eine grössere Untersuchungszahl widerlegt werden dürfte, da der Unterschied in der Altersgruppe IV, die die grösste Untersuchungszahl aufweist, signifikant ist.

Um zu sehen, wie weit das im Mittel gefundene Verhältnis der Mittelwerte in den einzelnen Colorimetriearten für den Einzelfall zutrifft, wurde dieses Verhältnis für die 17-KGS-Werte jedes einzelnen Kindes berechnet und die entsprechenden Faktoren in Tabelle 5 angegeben. 87 Faktoren für Methode II liegen zwischen 0,8 und 4,6 und 88 Faktoren für Methode III zwischen 0,3 und 2,9, sodass der Mittelwert von 2,5 (Methode II) und von 1,4 (Methode III) nicht durch sehr stark divergierende Einzelwerte zustande kommt.

Es fällt jedoch auf, dass einige Faktoren sehr erheblich vom Verhältnis der Mittelwerte abweichen. Da sich unser Material, wie oben beschrieben, nicht nur aus Urinen von ganz gesunden Kindern, sondern auch aus solchen von

Rekonvaleszenten zusammensetzt, wurden die Ergebnisse unter Berücksichtigung der Krankengeschichte in zwei Gruppen zusammengestellt. Die erste Gruppe enthält die Ergebnisse von 55 Kindern und setzt sich 1.) aus den Kindern des Kollegen und Bekanntenkreises und 2.) aus stationären Kindern zusammen, bei denen keine entzündliche Krankheit vorgelegen hatte, sodass mit weitgehender Sicherheit kein Einfluss auf die NNR - Funktion zu erwarten war. Die zweite Gruppe enthält die Ergebnisse der restlichen 45 Kinder, die 2 - 4 Wochen vor der Untersuchung eine akute entzündliche Krankheit durchgemacht hatten oder noch Medikamente erhielten, von denen nicht bekannt ist, wie weit sie die 17-KGS-Bestimmung beeinflussen.

Für beide Gruppen wurden die in Tabelle 5 angegebenen Faktoren für Methode II und III in Abhängigkeit vom absoluten Wert der Methode I in die Abbildungen 9 und 10 eingetragen. Die Punkte stellen die Werte der Kinder aus Gruppe 1, die Kreise die der Kinder aus Gruppe 2 dar. Für die Faktoren der gesunden Kinder (Gruppe 1) wurde der arithmetische Mittelwert x_m errechnet und die dazu gehörige Standardabweichung s bestimmt. Folgende Zahlen wurden erhalten:

$$x_m (II : I) = 2,5 \pm 0,8$$

$$x_m (III : I) = 4,4 \pm 0,5$$

Dieses "mittlere Colorimetrie-Verhältnis" für die Einzelwerte der sicher normalen Kinder weicht vom Verhältnis der Mittelwerte der sicher normalen Kinder, das 1 : 2,3 : 1,3 beträgt, nur wenig ab. Errechnet man aber das "mittlere Colorimetrie-Verhältnis" für alle Einzelwerte, so liegt es mit 1 : 3,2 : 1,7 bezüglich der Methode II deutlich höher. Das liegt daran, dass bei der Bildung des Verhältnisses aus den Mittelwerten die Urine mit absolut niedriger Steroidkonzentration und deshalb relativ hohem Gehalt an Störsubstanzen weit weniger ins Gewicht fallen als

die an Hormonmetaboliten reicheren Urine, während bei der Berechnung des "mittleren Colorimetrie-Verhältnisses" jedes Einzelverhältnis sich gleich stark auswirkt.

Die Werte x_m , $x_m \pm s$, und $x_m \pm 3s$ wurden auf der Ordinate abgetragen und durch diese Punkte Parallelen zur Abzisse gezogen.

Es ergibt sich dabei, dass die meisten Punkte (gesunde Kinder) innerhalb der Grenze $x_m \pm s$ liegen und alle Punkte innerhalb der Grenze $x_m \pm 3s$. Auch die meisten Kreise (fraglich gesunde Kinder) liegen innerhalb der Grenze $x_m \pm 3s$. Das ist nicht anders zu erwarten, da die ursprüngliche Auswahl nur Kinder betraf, die als gesund angesehen wurden und nur zufällig einmal eine Beeinträchtigung der NNR durch die überstandene Krankheit vorhanden sein konnte. Die Dichte der Kreise in den Randzonen der Grenze $x_m \pm 3s$ ist jedoch, insbesondere in Abbildung 9, grösser als bei den Punkten und ausserdem liegen mehrere Kreise oberhalb der gezogenen Linien.

Bei den sowohl in Abbildung 9 als auch in Abbildung 10 oberhalb der Grenzlinie $x_m + 3s$ liegenden Kreisen handelt es sich zum Teil um Werte des gleichen Kindes. Dies lässt daran denken, dass aussergewöhnlich hohe Faktoren für Methode II und III vielleicht durch überkorrigierte Werte in Methode I - bei Anwendung der Korrekturformel nach CALLOW - bedingt sein können. Wendet man bei Berechnung der einzelnen Faktoren die unkorrigierten mit Methode I erhaltenen Werte an, so ändert sich das Verhältnis in der Weise, dass mehrere der bei Verwendung des korrigierten Wertes oberhalb oder knapp unterhalb der Grenzlinie $x_m + 3s$ liegenden Kreise noch in den Bereich der einfachen Streuung fallen.

Weit wahrscheinlicher ist jedoch die Annahme, dass die hohen Werte in Methode II und III durch Störsubstanzen vergetäuscht werden, die durch diese beiden Methoden ungenügend eliminiert werden. Dafür spricht, dass die meisten der hohen Faktoren für Methode II und III sich bei niedrigen absoluten Werten finden, und dass bei geringer 17-KS-Konzentration

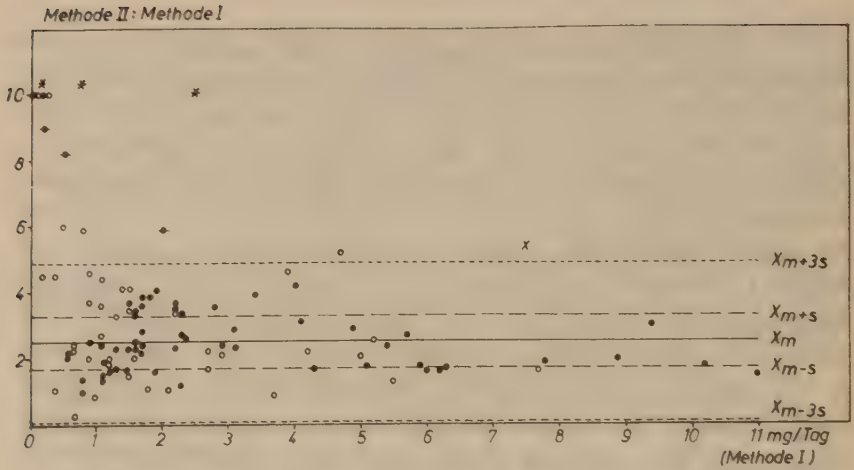


Abb. 9. Abhängigkeit aller 17-KGS-Einzelwerte der Colorimetriemethode I von denen der Colorimetrimodifikation II. • sicher gesunde Kinder; ○ nicht ganz sicher gesunde Kinder; x sicher kranke Kinder; ◊ u. * Werte, die in Abb. 10 ebenfalls über der 3s-Grenze liegen; x_m = mittleres Verhältnis aus allen •-Werten; $\pm s$ = zugehörige Standardabweichung.

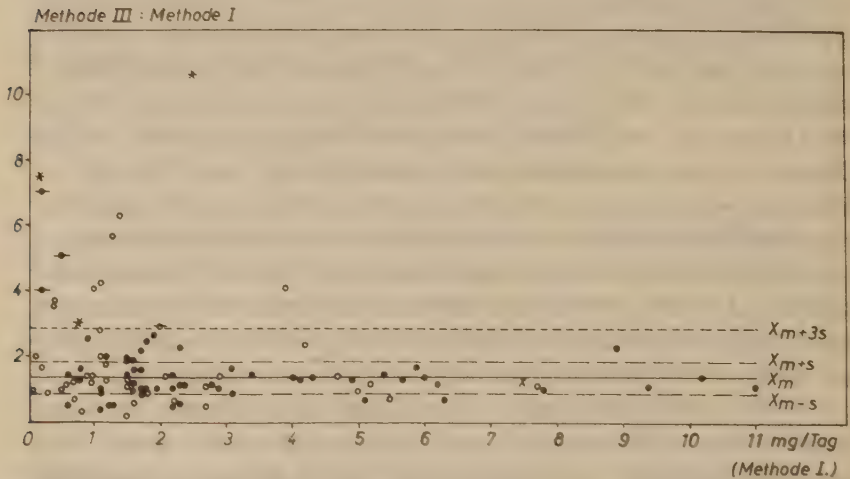


Abb. 10. Abhängigkeit aller 17-KGS-Einzelwerte der Colorimetrie-methode I von denen der Colorimetrimodifikation III. (Bedeutung der Zeichen wie in Abb. 9.)

das Verhältnis von Steroidsubstanz zu Störsubstanz stark zu Gunsten der letzteren verschoben ist. Auch ändern sich z.B. die hohen Faktoren für Methode II bei 5 Kindern durch Anwendung des unkorrigierten Wertes in Methode I nicht. Es handelt sich bei den Kindern 1.) um einen Zustand nach multiplen Abzessen (Nr. 12), 2.) um einen Zustand nach Dyspepsie und Dystrophie (Nr. 5), 3.) um einen Zustand nach Bronchopneumonie (Nr. 26), 4.) um ein subdurales Hämatom (Nr. 101), 5.) um einen Kleinwuchs mit leichter Hypothyreose (Nr. 102). (Die Werte der beiden letzten Kinder wurden bei der Mittelwertbestimmung für normale Kinder ausgeschlossen, da sie nicht als gesund bezeichnet werden konnten. Die Faktoren der Kinder, die bei der Mittelwertbestimmung ausgeschlossen wurden, sind in Abbildung 9 und 10 als Kreuze eingetragen).

Eine wie bei diesen Kindern nur mit Methode II gefundene absolut oder relativ zu den mit den beiden andern Methoden hohe 17-KGS-Ausscheidung wurde bei Untersuchungen unserer Klinik an kranken Kindern häufig erhalten, sodass vermutet wurde, dass ein zu Gunsten der Methode II verschobenes Verhältnis der 3 Colorimetrie-Methoden zueinander ein Hinweis auf eine NNR-Dysfunktion sein könne, sofern es nicht wie beschrieben als Ausdruck einer durch Störsubstanzen insuffizienten Colorimetriemethode zu werten ist.

Ein hoher Wert in Methode II könnte somit durch ein nur oder vermehrt im pathologischen Harn vorkommendes Steroid mit einem hohen Colorimetrieäquivalent in Methode II bedingt sein, oder durch eine besonders im pathologischen Harn ausgeschiedene Störsubstanz, die nur in Colorimetriemethode II hohe Werte vortäuscht.

Die Entscheidung dieser Frage ist vielleicht möglich, wenn man mit Zimmermann annimmt, dass die 17-Ketosteroide ihr Extinktionsmaximum bei 530 $m\mu$ haben und die Störsubstanzen mehr bei 420 $m\mu$. Es müsste nämlich dann aus dem Verhältnis der Extinktionen bei 530 $m\mu$ und 420 $m\mu$ in Methode II, vielleicht schon ein Hinweis zu bekommen sein, ob echte

17-KS mit abnormen Kernsubstituenten oder chemisch andere Störsubstanzen hier wirksam werden. Berechnet man für unsere Ergebnisse in Methode II den mittleren Quotienten S_{42} / S_{53} aus den Extinktionen der 47 Kinder, deren Faktoren für Methode II innerhalb der einfachen in Abbildung 10 angegebenen Streuung liegen, so beträgt er 1,05 (Streuung: 0,80 - 1,43). Für die Kinder, deren Faktoren für Methode II nicht innerhalb der einfachen, aber innerhalb der dreifachen Streuung liegen, beträgt der mittlere Quotient für den Grenzbezirk $x_m - s$ bis $x_m - 3s$ 1,17 (Streuung: 0,74 - 1,70) und für den Grenzbezirk $x_m + s$ bis $x_m + 3s$ 1,00 (Streuung: 0,61 - 1,33). Dagegen beträgt der Quotient S_{42} / S_{53} bei den 14 Kindern, deren Faktoren oberhalb der dreifachen Streuung liegen, im Mittel 0,84. Während die Quotienten von 9 dieser Kinder sich zwischen 0,86 und 1,15 bewegen, weisen 5 extrem niedrige Quotienten von 0,47 bis 0,61 auf. Es kann daher vermutet werden, dass es sich bei diesen 5 Kindern um durch echte 17-KS mit abnormen Kernsubstituenten bedingte hohe Werte in Methode II handelt, während bei den 9 übrigen Kindern eher eine durch Störsubstanzen vorgetäuschte Erhöhung des Wertes in Methode II vorliegen dürfte. Unter den 5 Kindern mit dem niedrigen Verhältnis sind 2 kranke Kinder (1. subdurales Hämatom 2. Kleinwuchs mit leichter Hypothyreose). Bei den übrigen Kindern handelt es sich um Zustände nach 1.) Bronchopneumonie, 2.) Hepatitis und 3.) Dyspepsie mit Dystrophie.

Die 17-KS-Mittelwerte der einzelnen Altersgruppen unterscheiden sich in den verschiedenen Colorimetrie-Methoden ebenfalls deutlich. Setzt man wie Zimmermann die mit Methode III gefundenen Werte gleich 100 %, so erhält man mit Methode I im Mittel 49 % und mit Methode II 115 %. Diese Zahlen stimmen mit den von Zimmermann 1955 angegebenen (100% = Methode III, 73% = Methode I, 108% = Methode II) nur recht annähernd überein. Setzt man nur die Mittelwerte

der 11 - 14 jährigen Kinder zueinander in Beziehung, so erhält man dagegen mit Methode I 63 % und mit Methode II 105 %. Somit dürfte das von Zimmermann angegebene Colorimetrieverhältnis nur bei Erwachsenen zutreffend sein, während sich bei jüngeren Kindern wohl auf Grund eines qualitativ verschiedenen 17-KS-Spektrum ein etwas anderes Verhältnis von etwa 100 % : 40 % : 121 % ergibt.

Durch Säulenchromatographie wurde festgestellt, dass die 17-KS-Ausscheidung der Kinder sich in der Tat qualitativ von der der Erwachsenen unterscheidet. Bei letzteren besteht der grösste Prozentsatz der 17-KS aus Dehydroisocandrosteron, Testosteron und Äthiocholanolon, während bei Kindern die 11 - Hydroxy - 17-Ketosteroide dominieren. (ULSTROM 1954).

Setzt man die mit Methode I gefundenen Werte gleich 100 %, so erhält man mit Methode II im Mittel 240 % und mit Methode III 200 %. Dies entspricht einem durchschnittlichen Verhältnis der drei Colorimetriemodifikationen zueinander von 1 : 2,4 : 2,0.

In den einzelnen Altersgruppen verhalten sich die mit den drei verschiedenen Colorimetriemodifikationen gefundenen Mittelwerte der 17-KS zueinander wie folgt:

	Methode I : Methode II : Methode III		
Säuglinge	1	:	1,9 : 3,0
2 - 4 Jahre	1	:	3,3 : 3,6
5 - 7 Jahre	1	:	3,7 : 2,6
8 -10 Jahre	1	:	2,9 : 2,2
11-14 Jahre	1	:	1,7 : 1,6

Tabelle 5

Verhältnis der 3 verschiedenen 17-KGS-Werte
bei einzelnen Kindern.

Nr. Alter			Absoluter Wert Methode I	Relationen			Methode II/III	Methode II/I-un
				Methode I	Methode : II	Methode : III		
12	3	Mon.	0,05	1,0	:	12,0	1,0	12,0
5	2	Mon.	0,1	1,0	:	13,0	2,0	6,5
23	2	Jahre	0,2	1,0	:	4,5	1,7	2,6
31	3	Jahre	0,2	1,0	:	17,0	4,0	4,2
42	5	Jahre	0,2	1,0	:	9,0	7,0	1,3
26	2	Jahre	0,3	1,0	:	17,0	0,9	1,9
18	6	Mon.	0,4	1,0	:	4,5	3,5	1,3
25	2	Jahre	0,4	1,0	:	1,0	3,7	0,3
24	2	Jahre	0,5	1,0	:	6,0	1,0	6,0
53	7	Jahre	0,5	1,0	:	8,2	5,1	1,6
x	4	2 Mon.	0,6	1,0	:	2,0	0,5	4,0
x	14	4 Mon.	0,6	1,0	:	2,2	1,5	1,5
17	5	Mon.	0,6	1,0	:	2,2	1,2	1,8
2	2	Mon.	0,7	1,0	:	2,4	1,3	1,8
16	5	Mon.	0,7	1,0	:	0,2	0,7	0,3
x	11	3 Mon.	0,8	1,0	:	1,0	1,3	0,8
32	3	Jahre	0,8	1,0	:	5,8	0,3	19,3
x	67	9 Jahre	0,8	1,0	:	1,4	1,7	0,8
7	3	Mon.	0,9	1,0	:	3,7	1,4	2,6
x	8	3 Mon.	0,9	1,0	:	2,5	2,6	1,0
15	5	Mon.	0,9	1,0	:	2,0	1,2	1,7
40	5	Jahre	0,9	1,0	:	4,6	1,4	3,3
36	4	Jahre	1,0	1,0	:	0,8	4,1	0,2
33	3	Jahre	1,1	1,0	:	3,6	2,8	1,2
x	37	4 Jahre	1,1	1,0	:	1,5	0,9	1,6
x	38	4 Jahre	1,1	1,0	:	1,4	1,0	1,4
45	6	Jahre	1,1	1,0	:	2,7	4,3	0,6
54	8	Jahre	1,1	1,0	:	4,4	2,0	2,2
x	81	10 Jahre	1,1	1,0	:	2,4	0,4	6,0
x	83	11 Jahre	1,1	1,0	:	1,9	2,0	0,9
x	19	2 Jahre	1,2	1,0	:	1,6	0,5	3,2
3	2	Mon.	1,2	1,0	:	1,8	1,8	1,0

Tabelle 5

Verhältnis der 3 verschiedenen 17-KGS-Werte
bei einzelnen Kindern.

Nr.	Alter	Absoluter Wert Methode I	Relationen			Methode II/III	Methode II/I-unkorr.
			Methode I	Methode II	Methode III		
35	3 Jahre	1,2	1,0	: 2,0	: 1,3	1,5	0,4
1	2 Mon.	1,3	1,0	: 1,7	: 1,5	1,1	0,8
44	6 Jahre	1,3	1,0	: 2,3	: 0,5	4,6	1,5
66	9 Jahre	1,3	1,0	: 3,3	: 5,7	0,6	1,5
56	8 Jahre	1,4	1,0	: 4,1	: 6,3	0,7	1,4
10	3 Mon.	1,5	1,0	: 1,4	: 0,2	7,0	1,2
20	2 Jahre	1,5	1,0	: 3,5	: 1,1	3,2	2,3
28	2 Jahre	1,5	1,0	: 2,3	: 2,0	1,1	1,3
29	2 Jahre	1,5	1,0	: 2,3	: 1,9	1,2	1,5
48	6 Jahre	1,5	1,0	: 4,1	: 1,3	3,1	2,7
52	7 Jahre	1,5	1,0	: 3,7	: 1,4	2,6	2,5
58	8 Jahre	1,5	1,0	: 1,7	: 1,2	1,4	1,7
60	8 Jahre	1,5	1,0	: 3,5	: 1,9	1,8	1,5
13	4 Mon.	1,6	1,0	: 2,0	: 0,6	3,3	1,1
41	5 Jahre	1,6	1,0	: 2,5	: 1,0	2,5	1,6
62	8 Jahre	1,6	1,0	: 3,4	: 1,6	2,1	1,6
9	3 Mon.	1,7	1,0	: 2,2	: 1,6	1,4	2,1
39	4 Jahre	1,7	1,0	: 2,4	: 0,9	2,6	1,4
43	5 Jahre	1,7	1,0	: 3,6	: 1,1	3,3	2,1
70	9 Jahre	1,7	1,0	: 2,8	: 1,1	2,5	2,7
82	10 Jahre	1,7	1,0	: 3,9	: 2,2	1,8	2,4
6	2 Mon.	1,8	1,0	: 1,1	: 0,9	1,2	0,9
55	8 Jahre	1,8	1,0	: 3,9	: 2,5	1,6	3,1
34	3 Jahre	1,9	1,0	: 1,6	: 2,7	0,6	1,0
79	10 Jahre	1,9	1,0	: 4,1	: 1,1	3,7	1,8
97	13 Jahre	2,0	1,0	: 5,9	: 2,9	2,0	2,0
22	2 Jahre	2,1	1,0	: 1,0	: 1,4	0,7	0,5
27	2 Jahre	2,2	1,0	: 2,3	: 0,5	4,6	1,1
59	8 Jahre	2,2	1,0	: 3,7	: 1,5	2,5	2,9
49	6 Jahre	2,2	1,0	: 3,7	: 1,1	3,3	1,8
84	11 Jahre	2,2	1,0	: 3,4	: 0,6	5,6	1,4
30	3 Jahre	2,3	1,0	: 3,4	: 0,6	5,6	2,5

Tabelle 5

Verhältnis der 3 verschiedenen 17-KGS-Werte
bei einzelnen Kindern.

Nr.	Alter	Absoluter Wert Methode I	Relationen			Methode II/III	Methode II/I
			Methode I	Methode II	Methode III		
x 46	6 Jahre	2,3	1,0	2,7	2,3	1,2	1,7
x 57	8 Jahre	2,3	1,0	1,2	1,2	1,0	1,4
x 86	11 Jahre	2,3	1,0	2,6	1,2	2,2	1,3
[94	13 Jahre	2,5	1,0	17,6	10,6	1,6	2,5
76	10 Jahre	2,7	1,0	2,2	1,1	2,0	1,5
85	11 Jahre	2,7	1,0	1,7	0,5	3,4	1,4
x 87	11 Jahre	2,8	1,0	3,6	1,2	3,0	2,2
50	6 Jahre	2,9	1,0	2,1	1,4	1,5	1,5
x 73	9 Jahre	2,9	1,0	2,4	1,1	2,2	1,4
x 71	9 Jahre	3,1	1,0	2,9	0,9	3,2	2,1
x 72	9 Jahre	3,1	1,0	2,3	1,7	1,3	1,3
x 77	10 Jahre	3,4	1,0	3,9	1,5	2,6	2,1
47	6 Jahre	3,7	1,0	0,9	0,7	1,3	0,6
75	10 Jahre	3,9	1,0	4,6	4,1	1,1	2,3
x 100	14 Jahre	4,0	1,0	4,2	1,4	3,0	2,6
x 61	8 Jahre	4,1	1,0	3,1	1,3	2,4	2,2
74	10 Jahre	4,2	1,0	2,2	2,4	0,9	1,7
x 21	2 Jahre	4,3	1,0	1,7	1,4	1,2	1,3
91	12 Jahre	4,7	1,0	5,2	1,4	3,7	3,2
x 63	9 Jahre	4,9	1,0	2,9	1,3	2,2	2,2
99	14 Jahre	5,0	1,0	2,1	1,0	2,1	1,6
x 65	9 Jahre	5,1	1,0	1,8	0,7	2,5	1,2
69	9 Jahre	5,2	1,0	2,5	1,2	2,1	1,7
x 89	12 Jahre	5,4	1,0	2,4	1,5	1,6	1,1
78	10 Jahre	5,5	1,0	1,3	0,7	1,9	1,1
x 88	12 Jahre	5,7	1,0	2,7	1,3	2,1	1,5
x 51	7 Jahre	5,9	1,0	1,8	1,7	1,1	1,1
x 80	10 Jahre	6,0	1,0	1,6	1,4	1,1	1,2
x 64	9 Jahre	6,2	1,0	1,6	1,2	1,3	1,4
x 68	9 Jahre	6,3	1,0	1,6	0,7	2,3	1,4
92	12 Jahre	7,7	1,0	1,6	1,1	1,4	1,4
x 93	12 Jahre	7,8	1,0	1,9	1,0	1,9	1,5

Tabelle 5

Verhältnis der 3 verschiedenen 17-KGS-Werte
bei einzelnen Kindern.

Nr. Alter	Absoluter Wert Methode I	Relationen			Methode II/III	Methode II/I unkor.
		Methode I	Methode II	Methode III		
95 13 Jahre	8,9	1,0	: 2,0	: 2,3	0,9	1,9
98 14 Jahre	9,4	1,0	: 3,0	: 1,1	2,7	2,7
90 12 Jahre	10,2	1,0	: 1,8	: 1,4	1,1	1,2
96 13 Jahre	11,8	1,0	: 1,5	: 1,1	1,4	1,3

Kranke Kinder:

101 5 Mon.	0,8	1,0	: 12,4	3,0	4,1	12,4
102 12 Jahre	7,5	1,0	: 5,4	1,3	4,2	4,7
103 14 Jahre	0,2	1,0	: 24,0	7,5	3,2	2,7

(x = sicher normale Werte)

4.) Über die Berechtigung der Korrektur bei Colorimetriemethode I.

Da die Möglichkeit besteht, dass die mit Methode I erhaltenen Werte durch Anwendung der Korrekturformel teilweise überkorrigiert werden, wurde vorgeschlagen, die bei der Zimmermannreaktion entstandene Farbe in nur einem Spektralbereich bei $530\text{ m}\mu$ zu messen und ohne Korrektur auf die 17-KGS-Konzentration umzurechnen. (Jorgensen) 1957).

Zum Vergleich haben auch wir die ohne Korrektur erhaltenen Tagesausscheidungen in den Tabellen 2 und 3 mitaufgeführt. In Abb. 11 sind die unkorrigierten 17-KGS, in Abbildung 12 die unkorrigierten 17-KS-Werte zusammen mit den korrigierten Werten eingetragen. Der Unterschied zwischen dem korrigierten und dem unkorrigierten Wert ist jeweils durch eine senkrechte Linie deutlich gemacht. Der unkorrigierte Wert liegt mit Ausnahme von wenigen Fällen höher als der korrigierte Wert.

Bei den 17-KGS beträgt der unkorrigierte Wert meist nicht mehr als das $2\frac{1}{2}$ fache des korrigierten Wertes. Nur in den mit a (Kind Nr. 83), b (Kind Nr. 5) und c (Kind Nr. 94) bezeichneten Fällen beträgt er das 5 - 7 fache des Korrigierten. In den Fällen a und b liegt der unkorrigierte Wert in Methode I um 3,7 - 4,7 mg höher als die Werte in Methode II und III, sodass ohne weiteres die Berechtigung der Korrektur in Methode I abzuleiten ist. In Fall c liegen dagegen die Werte in Methode II und III (43,2 mg/die, bzw. 26,5 mg/die) nicht nur viel höher als der korrigierte Wert in Methode I, sondern auch noch höher als der unkorrigierte Wert. (2,5 mg/die, bzw. 16,9 mg/die). Da der unkorrigierte Wert der Methode I besser zu den Werten in Methode II und III zu passen scheint, als der korrigierte, kann vermutet werden, dass es sich um einen überkorrigierten Wert in Methode I handelt. Es ist jedoch auch möglich, dass die sehr hohen Werte in Methode II und III durch eine sicher seltene Störsubstanz bedingt sind, die

nur durch das Vorgehen bei Methode I ausgeschaltet wird. Da es sich um Werte eines, bis auf eine leichte Adipositas, normalen Kindes ohne Cushingzeichen handelt, dürfte die letzte Annahme wahrscheinlich sein.

Auch bei den 17-KS sind teilweise grössere Unterschiede zwischen korrigierten und unkorrigierten Wert, besonders bei kleinen Werten, zu verzeichnen. Da der mit Methode III erhaltene 17-KS-Wert, der allgemein als verlässlich beurteilt wird, häufig eher dem unkorrigierten Wert in Methode I gleicht, könnte man auch hier daran denken, dass einige Werte in Methode I überkorrigiert sind.

Auch für die unkorrigierten Werte der Methode I wurden Mittelwerte und Streuungen berechnet. Die gefundenen Zahlen sind zum Vergleich zusammen mit den anderen Mittelwerten in folgender Tabelle aufgeführt:

17-KGS mg/die

Gruppe	Methode I korrigiert	Methode I un- korrigiert	Methode III	Methode II
I	0,9	$1,3 \pm 0,9$	1,1	1,9
II	1,3	$2,5 \pm 1,5$	1,9	3,4
III	2,0	$3,3 \pm 2,4$	3,0	5,2
IV	3,1	$4,6 \pm 2,1$	4,7	7,7
V	5,5	$8,0 \pm 3,5$	7,1	13,6

17-KS mg/die

Gruppe	Methode I korrigiert	Methode I un- korrigiert	Methode III	Methode II
I	0,1	$0,3 \pm 0,1$	0,3	0,2
II	0,2	$0,8 \pm 0,4$	0,7	0,8
III	0,3	$1,0 \pm 0,8$	0,9	1,3
IV	0,8	$1,9 \pm 0,9$	1,8	2,4
V	2,2	$3,2 \pm 2,4$	3,3	3,6

Es ergibt sich dabei, dass sich die unkorrigierten Mittelwerte der Methode I denen der Methode III nähern.

Das Verhältnis der Mittelwerte von Methode I, II und III beträgt bei Anwendung der unkorrigierten Werte der Methode I :

$$1 : 1,5 : 0,9$$

Das Verhältnis der Mittelwerte bei Anwendung der korrigierten Werte, mit $1 : 2,5 : 1,4$, entspricht dem Colorimetrie-verhältnis des 11-Keto-Ätiocholanolons, mit $1 : 2,1 : 1,4$, besser als bei Anwendung der unkorrigierten Werte. Vorausgesetzt, dass das Verhältnis der Mittelwerte hauptsächlich durch 11-Keto-Ätiocholanolon beeinflusst wird, dürfte daher die Korrektur bei Methode I berechtigt sein.

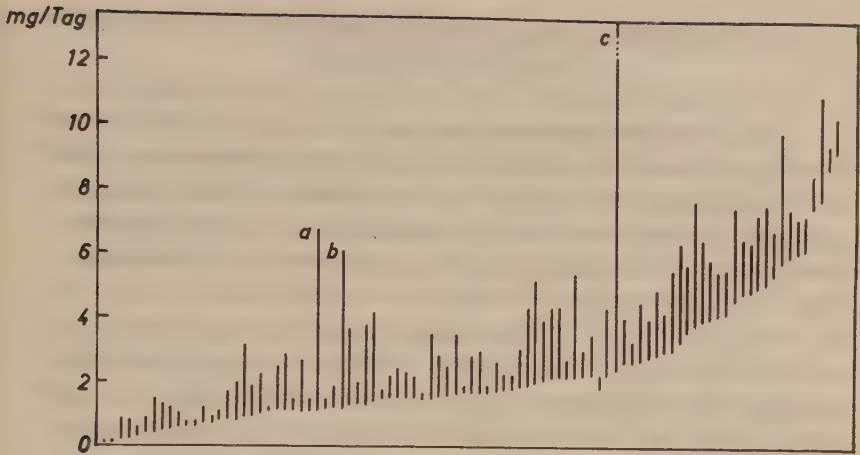


Abb.11. Unterschied zwischen korrigiertem und unkorrigiertem 17-KGS-Einzelwert in Colorimetriemethode I

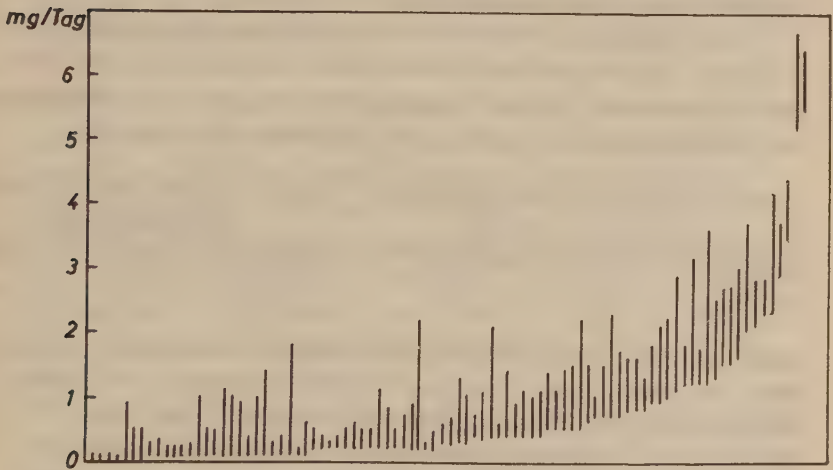


Abb.12. Unterschied zwischen korrigiertem und unkorrigiertem 17-KS-Einzelwert in Colorimetriemethode I

5.) Besprechung der 17-KGS- Ausscheidung bei Bestimmung ohne Kochhydrolyse.

Die Kochhydrolyse spaltet die noch nicht durch Essigsäure bei Zimmertemperatur freigemachten konjugierten Steroide und macht sie ebenfalls extrahierbar. Daher muss angenommen werden, dass die Bestimmung ohne Kochhydrolyse niedrigere Werte ergibt als die Bestimmung mit Kochhydrolyse. Die mit Methode II ermittelten Ergebnisse liegen in der Tat in allen 16 Fällen ohne Kochhydrolyse tiefer als mit Kochhydrolyse. Bei den mit Methode I erhaltenen Ergebnissen ohne Kochhydrolyse zeigt sich jedoch, dass ein Wert gleich hoch und 2 höher liegen als die mit Kochhydrolyse erhaltenen Ergebnisse, und bei Methode III sind es sogar 11 der ohne Kochhydrolyse gefundenen Werte, die über den mit Kochhydrolyse ermittelten liegen. Die Erklärung kann darin liegen, dass die Kochhydrolyse nicht nur noch gebundene Steroide spaltet, sondern möglicherweise auch säureempfindliche 17-KS verändert oder zerstört.

Das Verhältnis der drei Colorimetriearten scheint sich daher bei der 17-KGS-Bestimmung ohne Kochhydrolyse zu Gunsten der Methode III zu verschieben. Bei den 16 durchgeführten Untersuchungen ergaben sich folgende Mittelwerte:

Total-17-KGS mit Kochhydrolyse			Total-17-KGS ohne Kochhydrolyse		
Mittelwert mg/die			Mittelwert mg/die		
Methode I	Methode II	Methode III	Methode I	Methode II	Methode III
2,9	8,6	4,2	2,2	4,7	4,7

Setzt man die verschiedenen Mittelwerte zueinander in Beziehung, so ergibt sich für die 17-KGS-Bestimmung mit Kochhydrolyse ein Colorimetrieverhältnis von 1 : 3,0 : 1,4. Und für die 17-KGS-Bestimmung ohne Kochhydrolyse von 1 : 2,1 : 2,1. Bei der geringen Zahl der Untersuchungen kann dies jedoch kein endgültiges Ergebnis sein. Weitere Untersuchungen in dieser Richtung werden zur Zeit in unserem Labor ausgeführt.

Zusammenfassung.

- 1.) Die normale Ausscheidung der 17-ketogenen Steroide wurde bei 100 Kindern bestimmt. Zunächst wurden mit der, auch von den Erfindern der Methode bei der Aufstellung von Normalwerten für Erwachsene benützten, ZIMMERMANNschen Farbreaktion in der Modifikation nach CALLOW (1938) (I) Normalwerte aufgestellt.
- 2.) Die so gefundenen Werte schwanken:
bei Säuglingen: von 0,05 - 1,8 mg/die
bei Kleinkindern (bis zu 6 Jahren): von 0,2 - 3,3 mg/die
bei Schulkindern (bis zu 10 Jahren): von 0,5 - 6,3 mg/die
bei Schulkindern (von 10-14 Jahren): von 1,1 - 11,8 mg/die
- 3.) Ausserdem wurde die normale Ausscheidung der 17-ketogenen Steroide noch mit zwei anderen Modifikationen der ZIMMERMANNschen Reaktion bestimmt: a.) nach ZIMMERMANN 1935 u. 1952 (II); b.) nach ZIMMERMANN, ANTON und PONTIUS 1952 (III).
- 4.) Für 5 verschiedene Altersgruppen wurden Mittelwerte aufgestellt, wobei sich eine deutliche Altersabhängigkeit mit allen drei oben beschriebenen Modifikationen der ZIMMERMANNschen Farbreaktion ergab. Die Mittelwerte der einzelnen Altersgruppen schwanken vom Säuglingsalter bis zum Pubertätsalter in Methode I zwischen 0,9 und 5,5 mg/die, in Methode II zwischen 1,9 und 13,6 mg/die und in Methode III zwischen 1,1 und 7,1 mg/die.
- 5.) Die drei Colorimetriemodifikationen zeigten bei Betrachtung der Mittelwerte und auch der Einzelwerte deutliche, statistisch zu sichernde Unterschiede. Das durchschnittliche Verhältnis der Mittelwerte der Methoden I : II : III zueinander beträgt 1 : 2,5 : 1,4.

- 6.) Die Ähnlichkeit des gefundenen Verhältnisses der Mittelwerte der drei Colorimetriemodifikationen zueinander mit den von anderer Seite festgestellten entsprechenden Zahlen für 11-keto- Δ^4 -tiocolanolon, dem Oxydationsprodukt von Tetrahydrocortison, unterstützt die Auffassung, dass dieses Corticoid das Hauptausscheidungsprodukt des Hydrocortison- Cortison- Stoffwechsels ist.
- 7.) Die möglichen Ursachen für die Abweichung von dem im Mittel gefundenen Verhältnis der drei Colorimetriearten zueinander wurden besprochen, wobei einerseits eine abartige Qualität der Harnmetaboliten, andererseits das Auftreten chemisch andersartiger Störsubstanzen und deren Eliminierung diskutiert wird.
- 8.) Vereinzelte abweichende Ergebnisse bei nicht ganz gesunden Kindern lassen eine diagnostische Verwertung der Relationen zwischen den einzelnen Colorimetriearten möglich erscheinen.
- 9.) Die zwangsläufig mitbestimmte Ausscheidung der 17-Ketosteroide in den verschiedenen Colorimetriemethoden beträgt etwa 15 - 40 % der Ausscheidung der 17-ketogenen Steroide und entspricht ungefähr den in der Literatur mitgeteilten Ergebnissen bezüglich der Quantität und der Relation der einzelnen Colorimetriearten.
- 10.) Einige Urine wurden auch unter Verzicht auf die Kochhydrolyse untersucht, wobei sich das Verhältnis der Colorimetriemethoden zueinander etwas zugunsten der Methode III verschob. Die absoluten Werte, die nach NORYMBERSKI etwa den Glucuronsäure gebundenen 17-ketogenen Steroiden entsprechen, betrugen im Mittel in Methode I 75 %, in Methode II 55 % und in Methode III 110 % der hydrolysierten Werte.
- 11.) An Hand von einer 8- fachen Bestimmung und 15 Doppelbestimmungen wurde die Fehlergrenze der Methode ermittelt. Sie liegt zwischen ± 10 und ± 15 %.

Literaturverzeichnis

- 1.) Appleby J.I.; G. Gibson, J.K. Norymberski, R.D. Stubbs
Bioch. J. 60 453, 1955.
- 2.) Bagget B.; R.A. Kinsella, I.R. Doisy, E.A. Doisy
J. of Biol. Chem. 203, 1013, 1953.
- 3.) Bierich J.R.; E. Bohe, B. Zimmermann
Klin. Wschr. 34, 469, 1956.
- 4.) Borth R.; A. Linder, H. Riodel
Acta Endocrinol. 25, 33, 1957.
- 5.) Breuer H.; L. Nocke
Klin. Wschr., 187, 1957.
- 6.) Brooks C.J.W.; J.K. Norymberski
Bioch. J. 55, 371, 1953.
- 7.) Brüning I.
Dissertation 1959
- 8.) Callow N.H.; R.K. Callow, C.W. Emmens
Bioch. J. 32, 1312, 1938.
- 9.) Callow R.K.: "The Chemical Assay of Steroids of the An-
drogen and Adrenocortical Hormone Groups."
in "Hormone Assay", New York 363, 1950
- 10.) Cox R.J.
Bioch. J. 52, 339, 1952.
- 11.) Diczfalusy E.; L.O. Plantin, G. Birke, A. Westman
Acta Endocrinol. 18, 356-373, 1955.
- 12.) Diczfalusy E.; G. Birke, L.O. Plantin
Klin. Wschr. 225, 1956.
- 13.) Girard A.G.; Sandulesco
Helv. Chim. Acta 19, 1095, 1936
- 14.) Gornald A.G.; M.P. Mc Donald
J. Biol. Chem. 201, 279, 1953.
- 15.) Heard R.D.H.; H. Sobel, E.H. Vennig
J. Biol. Chem. 165, 687, 1946.
- 16.) Holtdorf A.F.; F.C. Koch
J. of Biolog. Chem: 135, 377, 1940.

- 17.) Jorgensen M.
Acta Endocrinol. 26, 424, 1957.
- 18.) Laros K.
Z. Inn. Med. 10, 641, 1955.
- 19.) Lieberman S.; L.B. Hariton, K. Dobriner
Federat. Proc. 9, 197, 1950.
- 20.) Lieberman S.; L.B. Hariton, K. Dobriner
Federat. Proc. 10, 216, 1951.
- 21.) Lieberman S.; B. Mond, E. Syles
Recent Progr. in Hormon Res. 9, 113, 1954.
- 22.) Loewenstein B.E.; A.C. Corcoran, I.H. Page
Endocrinol. 30, 82, 1946.
- 23.) Nelson D.H.; L.T. Samuels
J. Clin. Endocrin. a. Metabolism 12, 519, 1952.
- 24.) Norymberski J.K.
Nature 170, 1074, 1952.
- 25.) Norymberski J.K.; R.D. Stubbs, H.F. West
Lancet 27, 1276, 1953.
- 26.) Porter C.C.; R.H. Silber
J. Biol. Chem. 185, 201, 1950.
- 27.) Porter C.C.; R.H. Silber
J. Biol. Chem. 210, 923, 1954.
- 28.) Rosenkilde H.; W. Schroeder
Z. für Vitamin- u. Hormonforsch. 8, 132 u.
250, 1956.
- 29.) Schild W.
Klin. Wschr. 32, 326, 1954.
- 30.) Schneider J.J.
J. Biol. Chem. 194, 337, 1952.
- 31.) Spiegelhoff W.; D. Weber, K.H. Wiedehage, O. Ortiz
Acta Endocrinol. 18, 47, 1955.
- 32.) Staudinger H.; M. Schmeisser
Bioch. Z. 321, 83, 1950.
- 33.) Staudinger H.; V. Bauer
Klin. Wschr. 32, 330, 1954.

- 34.) Talbot N.B.; A.M. Butler, E.A. Mc Lachlan, R.N. Jones
J. Biol. Chem. 136, 365, 1940.
- 35.) Talbot N.B.; J. Ryan, J.K. Wolfe
J. Biol. Chem. 148, 593, 1943.
- 36.) Talbot N.B.; J. Ryan, J.K. Wolfe
J. Biol. Chem. 151, 607, 1943.
- 37.) Talbot N.B.; J. Ryan, J.K. Wolfe
J. Biol. Chem. 160, 535, 1945.
- 38.) Ulstrom C.R.A.
"Adrenal Function in Infants and Children"
Report of the Thirteenth M. a.R. Pediatric
Research Conference 1954.
- 39.) Wilson H.
Arch. Biochemistry 52, 217, 1954.
- 40.) Zeisel H.; M. Pressler
Zschr. f. Kinderhk. 72, 675, 1953.
- 41.) Zeisel H.; M. Pressler
Zschr. f. Kinderhk. 73, 615, 1953.
- 42.) Zimmermann W.
Z. physiol. Chemie 233, 257, 1935.
- 43.) Zimmermann W.
Z. physiol. Chemie 245, 47, 1936.
- 44.) Zimmermann W.
Deutsche med. Wschr. 1363, 1951.
- 45.) Zimmermann W.; H.U. Anton, D. Pontius
Z. physiol. Chemie 289, 91, 1952.
- 46.) Zimmermann W.
Z. physiol. Chemie 300, 141, 1955.

Herrn Professor Dr. med. Alfred Wiskott danke ich sehr für den Arbeitsplatz im Dr. von Hauner'schen Kinderspital, der mir die Ausführung dieser Arbeit ermöglichte.

Herrn Dr. med. Walter Freisleder danke ich für die Überlassung des Themas und besonders herzlich für die wertvollen Anregungen und Hinweise.

Lebenslauf

Am 28. Januar 1932 wurde ich in Göttingen als Tochter des damaligen Privatdozenten für Chemie Dr. phil. Adolf Butenandt und seiner Ehefrau Erika Butenandt geb. von Ziegner geboren. Meine ersten Lebensjahre verbrachte ich in Göttingen und Danzig. 1936 zogen wir nach Berlin - Dahlem, wo ich von 1938 - 1942 die Volksschule und von 1942 - 1943 die Gertrauden-Oberschule besuchte. 1943 wurden wir in das Seebad Bansin an der Ostsee evakuiert. Dort besuchte ich ein Jahr die Dorfschule und anschließend 6 Wochen eine dorthin verlagerte Kölner Oberschule. 1944 siedelten wir nach Tübingen über, wo ich in die Mädchenoberschule eintrat, an der ich im Juni 1951 das Abitur bestand. Anschließend verbrachte ich ein Jahr in Paris und Algier, um in einer französischen Familie zwei Kinder zu betreuen und um mich in der französischen Sprache zu vervollständigen.

1952 kehrte ich nach Tübingen zurück, um dort mein medizinisches Studium zu beginnen. Die ärztliche Vorprüfung bestand ich im Herbst 1955 in Tübingen, wo ich auch die beiden ersten klinischen Semester verbrachte. Die anschließenden Semester studierte ich in München, wo ich im Juni 1959 mein medizinisches Staatsexamen ablegte und anschließend promovierte.

